
MASTERARBEIT

Frau B. Sc.
Anne Hillmann

**Untersuchungen zur Optimierung
von GC-IMS- und DMS-Messungen
mit verschiedenen Geräten zur
medizinischen Diagnostik**

Mittweida, 2013

MASTERARBEIT

Untersuchungen zur Optimierung von GC-IMS- und DMS-Messungen mit verschiedenen Geräten zur medizinischen Diagnostik

Autor:

Anne Hillmann

Studiengang:

Physikalische Technik

Seminargruppe:

PT10w1-M

Erstprüfer:

Prof. Dr. Ralf Hinderer

Zweitprüfer:

Dr. med. Gunther Becher

Einreichung:

Mittweida, 18. April 2013

Verteidigung:

Mittweida, 17. Juni 2013

MASTERTHESIS

Investigations for optimization of GC-IMS- and DMS-measurements detected by different devices for medical diagnostics

author:

Anne Hillmann

course of studies:

Physical Engineering

seminar group:

PT10w1-M

first examiner:

Prof. Dr. Ralf Hinderer

second examiner:

Dr. med. Gunther Becher

submission:

Mittweida, 18th April 2013

defence:

Mittweida, 17th June 2013

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen Personen bedanken, die mich bei der Erstellung dieser wissenschaftlichen Arbeit unterstützt haben.

Besonderer Dank gilt Herrn Dr. Gunther Becher und Herrn Prof. Ralf Hinderer, die meine Masterarbeit mit viel Engagement und guten Ideen betreuten.

Bei Herrn Rolf Graupner möchte ich mich für die Zusammenarbeit und das mir seit einigen Jahren entgegengebrachte Vertrauen bedanken. Herr Graupner ermöglichte mir, Praktika und Forschungsmodule in seinem Unternehmen zu absolvieren und diese wissenschaftliche Arbeit im Namen der GRAUPNER medical group Geyer anzufertigen.

Ich bedanke mich auch bei Herrn Roman Purkhart, der stets für mich erreichbar war, wenn Fragen bezüglich der verwendeten Software oder der Auswertung der Spektrogramme auftraten.

Desweiteren danke ich Herrn Dr. Werner Schüler der Firma STEP Sensortechnik und Elektronik Pockau GmbH, der mir bezüglich technischer Fragen mit Rat und Tat zur Seite stand.

Ein herzliches Dankeschön gilt auch meinen Eltern, Großeltern und meinem Lebensgefährten für die Unterstützung während der Dauer der Masterarbeit und des gesamten Studiums. Sie hatten immer ein offenes Ohr für mich und gaben mir Kraft und Ruhe, die ich besonders während der Anfertigung der Abschlussarbeit benötigte.

Bibliografische Angaben

Hillmann, Anne:

Untersuchungen zur Optimierung von GC-IMS- und DMS-Messungen mit verschiedenen Geräten zur medizinischen Diagnostik.- 2013. - 160 S.

Mittweida, Hochschule Mittweida, Fakultät Mathematik/ Naturwissenschaften/
Informatik, Masterarbeit, 2013

Kurzreferat

Die Entwicklung neuer, nicht-invasiver und vor allem schnellerer Methoden zur Krankheitsfrühdagnostik gewinnt in der medizinischen Forschung zunehmend an Bedeutung. Dabei wird auch nach völlig neuen Methoden der Biomarkererkennung in der Ausatemluft gesucht. Die Ionenmobilitätsspektrometrie (IMS) ist eine Methode, die zur Ausatemluftanalyse u. ä. in der Krankheitsfrühdagnostik verwendet werden kann. Die IMS weist eine hohe Empfindlichkeit auf, die Geräte sind vergleichsweise klein und auf eine Vorbereitung der Probe kann verzichtet werden. Das Ergebnis einer Analyse mittels IMS ist ein Spektrogramm mit darin befindlichen Peaks, die durch die Substanzen der Ausatemluft erzeugt werden. Das Besondere an solchen Ausatemluftanalysen ist, dass die meisten gefundenen Peaks noch keinen konkreten Substanzen zugeordnet werden können. Es ist aber möglich, charakteristische Peak-Anordnungen bzw. Peak-Muster in den Spektrogrammen zu erkennen und wiederzufinden.

Die vorliegende Arbeit diene dem Ziel, die Möglichkeiten der Ausatemluftanalyse mittels IMS auszuloten. In dieser Arbeit werden Ionenmobilitätsspektrogramme unterschiedlicher Spektrometer analysiert und miteinander verglichen. Es fanden diverse Untersuchungen zur Optimierung von Messungen mittels IMS, der Gaschromatografie-Ionenmobilitätsspektrometrie-Kopplung (GC-IMS) und der Differenziellen Ionenmobilitätsspektrometrie (DMS) mit verschiedenen Geräten statt.

Zur Anwendung kamen drei Muster-IMS der Firma STEP Sensortechnik und Elektronik Pockau GmbH, nämlich ein Standalone-IMS, eine provisorisch aufgebaute GC-IMS-Kopplung sowie ein GC-IMS-Prototyp. Zum Vergleich diene ein differenzielles Ionenmobilitätsspektrometer (DMS), der microAnalyzer™ der Firma Sionex aus Bedford, MA (USA).

Im Rahmen dieser Masterarbeit wurden systematische Versuche durchgeführt, bei denen Raumluft, Ausatemluft von Probanden, sowie der Headspace aus unbewachsenen und mit Mykobakterien beimpften Nährböden als Proben dienten.

Die Ergebnisse zeigen, wie wichtig das Vorschalten einer GC-Säule und deren spezifische Eigenschaften für die Substanztrennung, speziell bei hochkomplexen Gasgemischen wie beispielsweise Ausatemluft sind. Gleiche Proben wurden mit unterschiedlichen Geräteeinstellungen und Gerätekombinationen gemessen.

Der microAnalyzer™ mit eingebauter Mikrokapillarsäule ist das Spektrometer, dessen Spektrogramme am besten analysiert werden können und die für die medizinische Diagnostik am geeignetsten erscheinen. In der Hierarchie der IMS-Entwicklungen der Firma STEP (einfaches IMS, provisorische GC-IMS-Kopplung, GC-IMS-Prototyp) konnte nachgewiesen werden, inwiefern verschiedene Änderungen des Aufbaus und der Einstellungen die aus den Analysen resultierenden Spektrogramme verändern. Aufgrund der Untersuchungen und deren Ergebnisse der vorliegenden Arbeit wird ersichtlich, dass durch weitere Verbesserungen im Bereich der Probennahme und der GC-Säule der GC-IMS-Prototyp möglicherweise den gleichen Stand wie der microAnalyzer™ erreichen kann.

Beide Spektrometer könnten nach intensiver Forschung zur Krankheitsfrühdagnostik verwendet werden. Es ist möglich, die Gerätekonfiguration und die Geräteeinstellungen für die Erkennung bestimmter Peak-Muster zu optimieren.

Stichwörter: Ionenmobilitätsspektrometrie, GC-IMS, DMS, Ausatemluftanalyse

Abstract

The development of new, non invasive and especially of faster methods to diagnose diseases becomes more and more important in medical research. One focus is on searching for completely new methods to detect biomarkers in exhaled breath. Ion mobility spectrometry (IMS) is one of those methods which can be used to analyze exhaled breath in medical diagnostics. IMS has a rather high sensitivity and the devices are comparatively smaller than others. A preanalytic preparation of samples is not necessary. The results of IMS-analyses are spectrograms with peaks constituted by substances of exhaled air. The particular of analysis of exhaled breath is that the most of the detected peaks cannot be assigned to certain substances. Nevertheless characteristic patterns of peaks can be detected and can be recovered in spectrograms of exhaled breath.

The aim of this thesis is to investigate possibilities of analysis of exhaled breath by IMS. In this thesis ion mobility spectrograms of different spectrometers are analyzed and compared. A variety of investigations were performed for the optimization of IMS-, GC-IMS- and DMS-measurements for medical diagnostic aims.

Different IMS devices of the company STEP Sensortechnik und Elektronik Pockau GmbH were used for the investigations, particularly a standalone-IMS, a provisional GC-IMS and a GC-IMS-prototype. To compare the different spectrometers the differential ion mobility spectrometer microAnalyzer™ developed by Sionex Bedford, MA (USA) was also used for the experiments.

As a part of the thesis a lot of methodical experiments were done. Ambient air, exhaled breath of volunteers and the headspace of non-overgrown and with mycobacteria inoculated tubed culture media served as samples for the experiments. The same samples were also investigated while using different device settings and combinations.

The microAnalyzer™, including a micro capillary column, enabled the best separation of peaks of substances in spectrograms and seems to be most suitable for medical diagnostics.

The continuous development of the IMS-devices done by the company STEP - a simple IMS, a provisional GC-IMS and the GC-IMS-prototype – allowed to study how different changes relating to the construction and the settings of the devices cause differences in the acquired spectrograms. Based on the investigations and results of this thesis it becomes obvious, that the GC-IMS-prototype can achieve the same level as the microAnalyzer™ by implementation of further technical specifications and settings.

Both spectrometers could be used in medical diagnostics after intensive research. It will be possible to optimize the device configuration and the device settings for the detection of particular patterns caused by biomarkers of headspace and exhaled air samples.

Keywords: ion mobility spectrometry, GC-IMS, DMS, analysis of exhaled breath

Inhaltsverzeichnis

| | |
|---|-----------|
| Inhaltsverzeichnis | I |
| Abkürzungsverzeichnis | IV |
| Abbildungsverzeichnis..... | V |
| | |
| 1 Einleitung..... | 1 |
| 2 Grundlagen | 3 |
| 2.1 Physiologie des Atemapparats und des Gaswechsels | 3 |
| 2.2 Ausatemluft- und Umgebungsluftanalyse | 5 |
| 2.3 Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis..... | 7 |
| 2.4 Methoden zur Ausatemluftanalyse | 9 |
| 2.4.1 Ionenmobilitätsspektrometrie | 9 |
| 2.4.1.1 Grundlagen | 9 |
| 2.4.1.2 Ionenmobilität von Gasen..... | 11 |
| 2.4.1.3 Differenzielle Ionenmobilitätsspektrometrie..... | 14 |
| 2.4.2 Gaschromatografie..... | 17 |
| 2.4.2.1 Allgemeine Grundlagen..... | 17 |
| 2.4.2.2 Retentionszeiten von Substanzen | 19 |
| 2.4.2.3 Trennsäulen | 22 |
| 3 Material und Methoden..... | 24 |
| 3.1 Ionenmobilitätsspektrometer der Firma STEP | 24 |
| 3.1.1 Aufbau und Messablauf | 27 |
| 3.1.2 Struktur der Messdaten | 29 |
| 3.1.3 Geräteeinstellungen für die Versuche | 32 |
| 3.1.4 GC-IMS der Firma STEP | 32 |
| 3.2 DMS der Firma Sionex (microAnalyzer™) | 37 |
| 3.2.1 Aufbau und Messablauf | 40 |
| 3.2.2 Struktur der Messdaten | 43 |
| 3.2.3 Geräteeinstellungen für die Versuche | 46 |

| | | |
|----------|---|-----------|
| 3.3 | Auswertesoftware zur Klassifizierung der aufgenommenen Spektrogramme | 48 |
| 3.3.1 | Auswertestrategie | 48 |
| 3.3.2 | Beschreibung der Auswertesoftware..... | 50 |
| 3.4 | Versuchsaufbau und –planung | 53 |
| 3.4.1.1 | Untersuchung der Spektrogramme des IMS, des provisorischen Aufbaus einer GC-IMS-Kopplung und des GC-IMS-Prototypen der Firma STEP | 53 |
| 3.4.1.2 | Untersuchung verschiedener Proben mit Hilfe der provisorisch aufgebauten GC-IMS-Kopplung und der DMS | 54 |
| 3.4.1.3 | Untersuchungen von Proben mit Hilfe der DMS und des GC-IMS der Firma STEP..... | 59 |
| 3.4.1.4 | Messung des Headspace von mit Mykobakterien beimpften Nährböden mittels DMS und GC-IMS | 62 |
| 4 | Ergebnisse | 67 |
| 4.1 | Untersuchung der Spektrogramme des IMS, des provisorischen Aufbaus einer GC-IMS-Kopplung und des GC-IMS-Prototypen der Firma STEP..... | 67 |
| 4.1.1 | Spektrogramme der Raumluft | 67 |
| 4.1.2 | Spektrogramme der Ausatemluft | 71 |
| 4.2 | Untersuchung verschiedener Proben mit Hilfe der provisorisch aufgebauten GC- IMS-Kopplung und der DMS | 75 |
| 4.2.1 | Analyse der Raumluft..... | 75 |
| 4.2.2 | Analyse der Ausatemluft..... | 82 |
| 4.2.3 | Analyse des Headspace des HEYM-Röhrchens..... | 88 |
| 4.3 | Untersuchungen von Proben mit Hilfe der DMS und des GC-IMS der Firma STEP..... | 94 |
| 4.3.1 | Analyse der Spektrogramme der Raumluft..... | 94 |
| 4.3.2 | Analyse der Spektrogramme der Ausatemluft | 99 |
| 4.4 | Messung des Headspace von mit Mykobakterien beimpften Nährböden mittels DMS und GC-IMS | 104 |
| 4.4.1 | DMS-Spektrogramme | 104 |
| 4.4.2 | GC-IMS-Spektrogramme | 110 |

| | |
|--|--------------|
| 5 Diskussion | 117 |
| 5.1 Untersuchung der Spektrogramme des IMS, des provisorischen Aufbaus einer GC-IMS-Kopplung und des GC-IMS-Prototypen der Firma STEP | 117 |
| 5.1.1 Spektrogramme der Raumluft..... | 117 |
| 5.1.2 Spektrogramme der Ausatemluft eines Probanden..... | 120 |
| 5.2 Untersuchung verschiedener Proben mit Hilfe der provisorisch aufgebauten GC- IMS-Kopplung und der DMS | 123 |
| 5.2.1 Analyse der Raumluft | 123 |
| 5.2.2 Analyse der Ausatemluft | 127 |
| 5.2.3 Analyse des Headspace des HEYM-Röhrchens | 131 |
| 5.3 Untersuchungen von Proben mit Hilfe der DMS und des GC-IMS der Firma STEP | 137 |
| 5.3.1 Analyse der Spektrogramme der Raumluft | 137 |
| 5.3.2 Analyse der Spektrogramme der Ausatemluft..... | 143 |
| 5.4 Messung des Headspace von mit Mykobakterien beimpften Nährböden mittels DMS und GC-IMS | 147 |
| 5.4.1 DMS-Spektrogramme | 147 |
| 5.4.2 GC-IMS-Spektrogramme..... | 150 |
| 6 Zusammenfassung und Ausblick..... | 157 |
| Index | X |
| Literaturverzeichnis | XI |
| Anlagen | XVII |
| Selbstständigkeitserklärung..... | XVIII |

Abkürzungsverzeichnis

| Kurzzeichen | Benennung |
|------------------|--|
| ^{63}Ni | Nickel-63 (Radionuklid) |
| DMS | Differenzielle Ionenmobilitätsspektrometrie |
| DZ | Driftzeit |
| GC-IMS | Kombination aus Gaschromatografie und Ionenmobilitätsspektrometrie; GC-Säule wird dem IMS vorgeschaltet |
| HEYM | Herrold's Egg Yolk Agar Slant with MJ and ANV |
| I | Intensität |
| IMS | Ionenmobilitätsspektrometrie |
| ppb | parts per billion: $1 \text{ ppb} = 10^{-9}$ |
| ppm | parts per million: $1 \text{ ppm} = 10^{-6}$ |
| ppt | parts per trillion: $1 \text{ ppt} = 10^{-12}$ |
| PSI | Pound-force per square inch; $1 \text{ PSI} = 6,8948 \cdot 10^3 \text{ Pa} = 6,8948 \cdot 10^{-2} \text{ Bar}$ |
| RT | Retentionszeit |
| V _c | Kompensationsspannung |
| VOC | (engl. volatile organic compound) flüchtige organische Verbindung |

Abbildungsverzeichnis

| | |
|---|----|
| Abbildung 1: Funktionsprinzip eines IMS [Schu2001] S. 19..... | 10 |
| Abbildung 2: Funktionsweise eines differentiellen Ionenmobilitätsspektrometers [Sion2005]..... | 16 |
| Abbildung 3: Verteilungsvorgang und gaschromatografische Wanderung [Kolb2002] S. 6 | 20 |
| Abbildung 4: Standalone IMS der Firma STEP [STEP2012] S. 1 | 24 |
| Abbildung 5: Messprinzip STEP IMS [STEP2012] S. 5..... | 26 |
| Abbildung 6: Aufbau der IMS-Messzelle [STEP2012] S. 6 | 28 |
| Abbildung 7: Beispiel für die grafische Darstellung eines positiven Spektrogramms mit der Zeitachse [STEP2012] | 29 |
| Abbildung 8: Grafische Darstellungsmöglichkeit der IMS-Spektrogramme unter Verwendung der Messpunkte n [STEP2012]..... | 30 |
| Abbildung 9: Betrachtung aller zeitlich nacheinander aufgenommenen Spektrogramme einer Messung [STEP2012] | 30 |
| Abbildung 10: Ein Beispiel für die Visualisierung aufgenommener IMS-Spektrogramme mit Hilfe einer Matlab-Anwendung. x-Achse: Driftzeit in ms. y-Achse: Messdauer in s bei IMS, Retentionszeit in s bei GC-IMS. | 31 |
| Abbildung 11: Provisorischer Aufbau einer GC-IMS-Kopplung. Beschreibung von links nach rechts: IMS, GC-Säule, Injektor und Pumpe | 33 |
| Abbildung 12: Heatmap- bzw. Falschfarben-Darstellung der mit der GC-IMS-Kopplung aufgenommenen Spektrogramme..... | 34 |
| Abbildung 13: Schematischer Aufbau des GC-IMS-Prototypen der Firma STEP..... | 35 |
| Abbildung 14: Prototyp des GC-IMS der Firma STEP | 35 |
| Abbildung 15: DMS der Firma Sionex..... | 37 |
| Abbildung 16: Schema zum Ablauf der Probennahme des microAnalyzers™ | 40 |
| Abbildung 17: Schema der Beladung der GC-Säule des microAnalyzers™ | 41 |
| Abbildung 18: Schema zur Analyse der Gasprobe des microAnalyzers™ [Sion2005] . | 42 |
| Abbildung 19: Schema der Detektion durch den microDMx-Sensor [Sion2005]..... | 42 |
| Abbildung 20: Heatmap der positiven (links) und negativen (rechts) Bestandteile der Ausatemluft eines Probanden. In der Heatmap ist der Reactant Ion Peak (RIP) zu erkennen..... | 44 |

| | |
|--|----|
| Abbildung 21: Beispiel für die Darstellung der Spektrogramme durch eine Matlab-Anwendung. In diesem Fall wird das Spektrogramm der Ausatemluft eines Probanden dargestellt. Auf der y-Achse wird die Retentionszeit (RT) aufgetragen, auf der x-Achse die Kompensationsspannung V_C in %. | 44 |
| Abbildung 22: Auszug einer abgespeicherten Datei eines positiven Spektrogramms | 45 |
| Abbildung 23: Ergebnis einer beliebigen Clusteranalyse. Links: Ermittelte Peaks mit dem rot markierten, näher analysierten Peak. Rechts: Analyse des rot markierten Peaks mit Hilfe eines Boxplots. | 51 |
| Abbildung 24: Versuchsaufbau für microAnalyzer™ | 55 |
| Abbildung 25: Beispiel für die Probennahme eines HEYM-Röhrchen, hier für den microAnalyzer™. Über einen Schlauch wird die Luft aus den HEYM-Röhrchen durch das DMS abgesaugt. Es strömt gefilterte Luft in das Röhrchen nach. Im Hintergrund ist ein Filter der Firma STEP (metallischer Zylinder) zu sehen. | 57 |
| Abbildung 26: Links: Atemrohr für die Zuführung der Ausatemluft zu den Spektrometern. Rechts: DMS. | 58 |
| Abbildung 27: Versuchsaufbau mit zwei DMS. In der Mitte das GC-IMS von STEP. Der Versuch wurde mit zwei DMS durchgeführt. Für die vorliegende Arbeit werden die Spektrogramme eines DMS ausgewertet. | 63 |
| Abbildung 28: Versuchsaufbau. Rechts: Heizvorrichtung mit darin befindlichen, auf 37 °C erwärmte HEYM-Röhrchen. Unten: microAnalyzer™. Links oben: GC-IMS-Prototyp. | 66 |
| Abbildung 29: Spektrogramme der Raumluft. Oben: IMS-Spektrogramm. Mitte: Mit der provisorischen GC-IMS-Kopplung aufgenommenes Spektrogramm. Unten: Mit dem GC-IMS-Prototypen aufgenommenes Spektrogramm. Für die Darstellung wurde ein Ausschnitt vergrößert, da die alle Peaks nach kurzer Retentionszeit im Spektrogramm auftreten. Auf der x-Achse der drei Spektrogramme wird die Driftzeit in ms aufgetragen. | 68 |
| Abbildung 30: Spektrogramme der Ausatemluft. Oben: IMS-Spektrogramm. Mitte: Mit der provisorischen GC-IMS-Kopplung aufgenommenes Spektrogramm. Unten: Mit dem GC-IMS-Prototypen aufgenommenes Spektrogramm. Für die Darstellung wurde ein Ausschnitt vergrößert, da alle Peaks nach | |

- kurzer Retentionszeit im Spektrogramm auftreten. Auf der x-Achse der drei Spektrogramme wird die Driftzeit in ms aufgetragen..... 72
- Abbildung 31: Mit der provisorisch aufgebauten GC-IMS-Kopplung aufgenommene Spektrogramme der Raumluft. Links: Temperatur der GC-Säule beträgt 80 °C. Rechts: Temperatur der GC-Säule beträgt 100 °C..... 75
- Abbildung 32: Mit dem microAnalyzer™ aufgenommene Spektrogramme der Raumluft. Links: GC-Säule wird isotherm bei 80 °C beheizt. Rechts: GC-Säule wird isotherm bei 100 °C beheizt..... 77
- Abbildung 33: Verdeutlichung der Lageverschiebungen bestimmter Peaks (Peak 28 und Peak 13) aufgrund veränderter GC-Säulentemperatur. Peak 1 erfährt keine Lageverschiebung. Links: GC-Säulentemperatur beträgt 80 °C. Rechts: GC-Säulentemperatur beträgt 100 °C. 79
- Abbildung 34: Peak-Anordnungen in den Spektrogrammen, die trotz der Lageverschiebungen der Peaks erkennbar sind. Links: GC-Säulentemperatur beträgt 80 °C. Rechts: GC-Säulentemperatur beträgt 100 °C..... 79
- Abbildung 35: Mit dem microAnalyzer™ aufgenommenes Spektrogramm der Raumluft. Die GC-Säule durchläuft eine Temperaturkurve. 80
- Abbildung 36: Mit der provisorisch aufgebauten GC-IMS-Kopplung aufgenommene Spektrogramme der Ausatemluft eines Probanden. Links: Temperatur der GC-Säule beträgt 80 °C. Rechts: Temperatur der GC-Säule beträgt 100 °C. 82
- Abbildung 37: Mit dem microAnalyzer™ aufgenommene Spektrogramme der Ausatemluft eines Probanden. Links: GC-Säule wird isotherm bei 80 °C beheizt. Rechts: GC-Säule wird isotherm bei 100 °C beheizt. 84
- Abbildung 38: Mit dem microAnalyzer™ aufgenommenes Spektrogramm der Ausatemluft eines Probanden. Die GC-Säule durchläuft eine Temperaturkurve. 86
- Abbildung 39: Mit der provisorisch aufgebauten GC-IMS-Kopplung aufgenommene Spektrogramme eines HEYM-Röhrchens. Links: Temperatur der GC-Säule beträgt 80 °C. Rechts: Temperatur der GC-Säule beträgt 100 °C. 88

| | |
|---|-----|
| Abbildung 40: Mit dem microAnalyzer™ aufgenommene Spektrogramme eines HEYM-Röhrchens. Links: GC-Säule wird isotherm bei 80 °C beheizt. Rechts: GC-Säule wird isotherm bei 100 °C beheizt. | 90 |
| Abbildung 41: Mit dem microAnalyzer™ aufgenommenes Spektrogramm eines HEYM-Röhrchens. Die GC-Säule durchläuft eine Temperaturkurve..... | 92 |
| Abbildung 42: Mit dem microAnalyzer™ aufgenommenes Spektrogramm der Raumluft. Die GC-Säule durchläuft eine Temperaturkurve..... | 94 |
| Abbildung 43: Mit dem GC-IMS-Prototypen aufgenommene Spektrogramme der Raumluft. Oben: Temperatur der GC-Säule beträgt 40 °C. Mitte: Temperatur der GC-Säule beträgt 80 °C. Unten: Temperatur der GC-Säule beträgt 100 °C. | 96 |
| Abbildung 44: Mit dem microAnalyzer™ aufgenommenes Spektrogramm der Ausatemluft eines Probanden. Die GC-Säule durchläuft eine Temperaturkurve..... | 99 |
| Abbildung 45: Mit dem GC-IMS-Prototypen aufgenommene Spektrogramme der Ausatemluft. Oben: Temperatur der GC-Säule beträgt 40 °C. Mitte: Temperatur der GC-Säule beträgt 80 °C. Unten: Temperatur der GC-Säule beträgt 100 °C gewählt. Auf der x-Achse wird jeweils die Driftzeit in ms aufgetragen..... | 101 |
| Abbildung 46: DMS-Spektrogramme der Versuchsreihe. Links oben: Nährboden nach 2 Wochen. Rechts oben: Nährboden nach 4 Wochen. Links unten: Bakterienkultur nach 2 Wochen. Rechts unten: Bakterienkultur nach 4 Wochen. | 104 |
| Abbildung 47: Boxplot-Darstellung der Intensitätsänderungen des Peaks 43 | 106 |
| Abbildung 48: Boxplot-Darstellung der Intensitätsänderungen des Peaks 31 | 107 |
| Abbildung 49: Boxplot-Darstellung der Intensitätsänderungen des Peaks 33 | 108 |
| Abbildung 50: Boxplot-Darstellung der Intensitätsänderungen des Peaks 42 | 109 |
| Abbildung 51: GC-IMS-Spektrogramme der Versuchsreihe. Links oben: Nährboden nach 2 Wochen. Rechts oben: Nährboden nach 4 Wochen. Links unten: Bakterienkultur nach 2 Wochen. Rechts unten: Bakterienkultur nach 4 Wochen. | 110 |
| Abbildung 52: Boxplot-Darstellung der Intensitätsänderungen des Peaks 1 | 112 |
| Abbildung 53: Boxplot-Darstellung der Intensitätsänderungen des Peaks 2 | 113 |

Abbildung 54: Boxplot-Darstellung der Intensitätsänderungen des Peaks 12 114

Abbildung 55: Boxplot-Darstellung der Intensitätsänderungen des Peaks 18 115

1 Einleitung

Die Entwicklung neuer Methoden zur Krankheitsfrühdiagnostik nimmt einen immer höheren Stellenwert in der medizinischen Forschung ein. Bisherige Methoden sind meist zeitaufwändig und teuer. Eine Alternative zu den bisher angewandten Methoden ist die Ionenmobilitätsspektrometrie, kurz IMS genannt. Sie ist ein analytisches Verfahren, das zur Detektion von Substanzen im technischen und chemischen Bereich verwendet wird. Die IMS dient unter anderem der Bestimmung spezifischer Substanzen in der Umgebungsluft beispielsweise für Energieunternehmen oder der Sprengstoffdetektion. [STEP2012] Aufgrund der Vielseitigkeit und der hohen Empfindlichkeit des Verfahrens kann die IMS auch in verschiedenen Bereichen der Medizin, vor allem aber in der Krankheitsfrühdiagnostik Anwendung finden. [BeRo2005, BeHi2010, KiBe2009]

Der Fokus der Anwendung der IMS in der medizinischen Diagnostik liegt hauptsächlich auf der Analyse der Ausatemluft des Menschen. [BS2013, BeHi2010] Die Detektion und Feststellung krankheitsspezifischer Marker in diesem hochkomplexen Stoffgemisch wird dadurch möglich. Mit Hilfe dieses Verfahrens könnte eine nicht-invasive, schnelle, aber präzise und weitaus kostengünstigere Methode in der Krankheitsfrühdiagnostik Einzug halten. Ein weiteres Anwendungsgebiet der IMS in der Medizin könnte die Analyse von Keimpopulationen auf der Hautoberfläche darstellen, um die Verbreitung solcher Krankheitserreger, wie z. B. MRSA, in Krankenhäusern, Pflegeheimen u. ä. zu verhindern.

Ziel dieser Arbeit ist es, Spektrogramme verschiedener Spektrometer – ein IMS, zwei GC-IMS-Kopplungen und ein DMS - zu untersuchen und deren Messungen für die medizinische Diagnostik zu optimieren. Dabei sollen auch die verschiedenen Messgeräte miteinander verglichen und Unterschiede zwischen ihnen herausgestellt werden. Zudem sollen Einflüsse verschiedener technischer und physikalischer Parameter bewertet werden, um die Entwicklung eines GC-IMS gemeinsam mit der Firma STEP Sensortechnik und Elektronik Pockau GmbH fortführen zu können. Das Arbeiten und Auswerten der von Gerät zu Gerät unterschiedlichen Spektrogramme soll für die zukünftigen Versuche besser nachvollzogen und verstanden werden.

Um ein Grundverständnis für die Thematik zu schaffen, wird in den Grundlagen zunächst die Physiologie des Atemapparats und der Gaswechsel erläutert. Der Funktion der Lunge als Ausscheidungsorgan wird hierbei eine besondere Rolle eingeräumt. Anschließend werden die Bestrebungen, die Ausatemluft des Menschen und die Umgebungsluft zu analysieren, näher betrachtet und erklärt.

In dieser Arbeit werden die Verfahren der Ionenmobilitätsspektrometrie, einschließlich der differentiellen Ionenmobilitätsspektrometrie, und der Gaschromatografie vorgestellt, die beide bereits in der Vergangenheit der Analyse der Ausatemluft bzw. verschiedener Luftproben dienten. [Hill2010,Hill2012, Hillm2012]

Folgend werden die verwendeten Materialien und Methoden, die für die verschiedenen Versuche und die Auswertung der aufgenommenen Spektrogramme erforderlich sind, sowie Aufbau und Planung der einzelnen Versuche selbst beschrieben. Im weiteren Verlauf werden dem Leser die Ergebnisse der Untersuchungen näher gebracht und diskutiert. Sie sollen unter anderem zeigen, dass mit Hilfe der verschiedenen verwendeten Verfahren sowohl Ausatemluft als auch Umgebungsluft analysiert werden können.

2 Grundlagen

In diesem Kapitel werden die Grundlagen bezüglich der Lunge und der Möglichkeiten zur Ausatemluftanalyse vermittelt, um ein Grundverständnis für die gesamte Thematik zu schaffen. Zu Beginn wird speziell auf die Lunge als Ausscheidungsorgan und die Ausatemluftanalyse eingegangen. Neben der Ausatemluft kann auch Umgebungsluft aus der unmittelbaren Nähe eines Menschen analysiert werden, sodass mögliche Infektionen diagnostiziert werden können. Beide Möglichkeiten werden in folgendem Abschnitt erläutert. Anschließend werden verschiedene Methoden zur Analyse der Ausatem- und Umgebungsluft vorgestellt, die für die wissenschaftlichen Untersuchungen dieser Arbeit von Bedeutung waren. Dabei werden deren physikalische sowie chemische Hintergründe und Funktionsweisen näher beleuchtet.

2.1 Physiologie des Atemapparats und des Gaswechsels

Die Lunge ist ein Teil des komplexen Atmungssystems. Mit Hilfe der Atmungsorgane wird dem Organismus Sauerstoff zur Verfügung gestellt und überflüssiges Kohlenstoffdioxid (CO_2) aus dem Körper entfernt. Die Atmungsorgane werden in luftleitende Anteile (obere und untere Luftwege) und in die Lungenbläschen, die sogenannten Alveolen, unterschieden. Sie dienen dem eigentlichen Gasaustausch zwischen Atemluft und Blut.

Atemluft ist ein hochkomplexes Gasgemisch, das der Mensch physiologisch zum Atmen verwendet. Die vom Menschen eingeatmete Atemluft entspricht in ihrer Gaszusammensetzung der Atmosphäre (78 % Stickstoff, 21 % Sauerstoff, 0,97 % Edelgase, 0,03 % Kohlenstoffdioxid). [MINT2013] Die vom Menschen ausgeatmete Atemluft unterscheidet sich in ihrer Zusammensetzung von der eingeatmeten Atemluft. Sie enthält 78 % Stickstoff, 16 % Sauerstoff, 3-4 % Kohlenstoffdioxid, 0,97 % Edelgase und 2-3 % Wasserdampf. [MINT2013] Die Temperatur der Ausatemluft beträgt etwa 35 °C, ihre relative Luftfeuchtigkeit etwa 95 %. [Doc12013]

Pro Atemzug werden etwa 500 ml Luft eingeatmet. Ein erwachsener Mensch atmet etwa zwölfmal pro Minute. Alle Luftwege stehen in direkter Verbindung mit der Umgebung. Dadurch wird die Lunge Pilzen, Bakterien, Viren und volatilen Substanzen aus der Umwelt stark ausgesetzt. Der Aufbau sowie die Funktion der Lunge werden in Quelle [Hill2010] präziser erläutert.

Die Lunge kann schon längst nicht mehr nur als reines Atmungsorgan mit der Aufgabe der Aufnahme von Sauerstoff und der Abgabe von Kohlendioxid als Produkt des Energiestoffwechsels bezeichnet werden.

Die Lunge ist in zweiter Linie ein Ausscheidungsorgan. Ausgehend von der Theorie, „dass Krankheiten zellbiologisch gesehen auf veränderten Stoffwechselprozessen der betroffenen Zellen und Organe – also auch der Atemwege – beruhen, ist es naheliegend, entsprechende leichtflüchtige Substanzen bzw. Stoffwechselprodukte in der Atemluft zu erwarten.“ [Bech2013] S. 105 Beispielsweise trägt die Lunge gemeinsam mit den Nieren zur Regulierung des Säure-Basen-Haushaltes bei. So erfolgt die CO₂-Eliminierung des Organismus über die Niere als Kohlensäure oder aber über die Lunge als gasförmiges CO₂. Bei langfristigen Nierenfunktionsstörungen kommt es daher nachweislich zu einer erhöhten Abatmung von CO₂ über die Lunge. [BeRo2005]

Auch andere Ausscheidungsprodukte der Lunge sind mittlerweile als Krankheitszeichen bekannt. Als eindeutiges Beispiel dafür kann der „Phoeter ex orae“¹ bei diabetischem Koma aufgeführt werden. Dabei kommt es zu einer erhöhten Abatmung von Azeton. Es wird angenommen, dass über die Lunge speziell solche leichtflüchtigen Stoffwechselprodukte ausgeschieden werden.

In der Ausatemluft befindet sich eine Reihe von kleineren Molekülen, die möglicherweise Stoffwechselprodukte bestimmter Zellprozesse sind. Der US-amerikanische Chemiker Linus Carl Pauling berichtete schon vor mehr als vierzig Jahren von der Entdeckung von mehr als 200 Stoffen in der Ausatemluft. [PaRo1971]. Bei Entzündungen der Lunge und der Atemwege wird beispielsweise

¹ Mundgeruch

Wasserstoffperoxid abgeatmet. Leukotriene² und Stickstoffmonoxid (NO) sind ebenfalls bekannte Entzündungsstoffe, die bei allergischen Entzündungen in der Ausatemluft festgestellt werden können. Bei Lebererkrankungen finden sich vermehrt Produkte des Leberstoffwechsels, wie Ethen, Ethan, und Ethanol, in diesem hochkomplexen Stoffgemisch. Die Analytkonzentrationen des Atemgases liegen im ppb- bis ppm-Bereich. [BeRo2005]

Aufgrund der aufgeführten Tatsachen wird ersichtlich, wie groß das Potenzial des Stoffgemisches „Ausatemluft“ wirklich ist. Die Analyse der Ausatemluft und der darin enthaltenen Stoffe ist speziell für die Medizin von großem Interesse. Die medizinische Diagnostik könnte dadurch für Arzt und Patient wesentlich vereinfacht werden.

2.2 Ausatemluft- und Umgebungsluftanalyse

„Atemluft stellt ein Substrat dar, das die Möglichkeit eröffnet, bestimmte Krankheitszeichen zu erkennen.“ [Hill2010] Es gibt bereits verschiedene Anwendungen und Methoden, um die Ausatemluft zu analysieren. Es existieren Methoden zum Gaswechsel, die zur Lungenfunktionsprüfung und zum Messen der Lungen- und Atemvolumina dienen. Beispiele dafür sind die Spirometrie und Methoden zur Beurteilung des Atemwiderstandes. Aus der Spirometrie ging wiederum die Ergooxyspirometrie hervor. Hierbei handelt es sich um eine Kombination aus Spirometrie unter körperlicher Belastung und der Messung der Sauerstoffaufnahme und der CO₂-Abgabe. Im Laufe der Zeit stellte sich heraus, dass nicht nur die oben beschriebenen Parameter von Bedeutung sein könnten, sondern auch die Zusammensetzung der Ausatemluft an sich. So kam es zur Entwicklung von Methoden der Gasanalysen mittels Gaschromatografie und der mittelbaren Analyse ausgeatmeter Parameter über den Umweg der Sammlung des Atemkondensates [BeRo2005]. Der Grundstein beider Methoden wurde durch die Untersuchungen von Linus Pauling [PaRo1971] gelegt.

² Produkte des Arachidonsäurestoffwechsels der Leukozyten und Makrophagen

Mit Hilfe spezieller Atemtests, die markierte Substrate benutzen, können deren spezielle Stoffwechselprodukte in der Ausatemluft erkannt werden. Ein Beispiel dafür ist der C-Harnstoff-Atemtest zur Erkennung einer *Helicobacter pylori*³ - Infektion des Magens.

Neuste Erkenntnisse zeigen, dass auch Krebserkrankungen mit Hilfe der Analyse der Ausatemluft festgestellt werden können. Eine italienische Forschungsgruppe analysierte die Ausatemluft von Darmkrebspatienten und einer Kontrollgruppe mittels einer Gaschromatografie-Massenspektroskopie-Kopplung (abgekürzt GC-MS-Kopplung). Es gelang ihnen, 15 trennende Substanzen bzw. volatile⁴ organische Verbindungen (VOCs) zu detektieren, die die Ausatemluftproben beider Gruppen voneinander unterscheiden. Dadurch könnte eine von vielen Patienten als unangenehm empfundene Darmspiegelung für Vorsorgeuntersuchungen überflüssig werden. Nähere Informationen dazu finden sich in Quelle [AlLe2013].

Eine weitere diagnostische Möglichkeit stellt die Detektion von Bakterieninfektionen dar, die speziell in Krankenhäusern und Pflegeheimen immer wichtiger wird. Die Ansteckungsgefahr und damit die Verbreitung von Keimen sind in diesen Einrichtungen besonders ausgeprägt. Zunehmend häufen sich Infektionen mit dem Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus*, auch MRSA genannt. Bei diesen Bakterien handelt es sich um *Staphylococcus aureus*, die Abwehrmechanismen gegen Antibiotika wie Methicillin bzw. Oxacillin entwickelt haben. Dadurch wird die Behandlung dieser Bakterien im Falle einer Infektion sehr erschwert. Das Bakterium selbst kommt auf der Haut gesunder Menschen vor. Dringt es in den Körper ein, können Infektionen hervorgerufen werden. Am häufigsten entwickeln sich MRSA-Infektionen bei mehrfach hospitalisierten Patienten unter Langzeittherapie mit Antibiotika, beispielsweise bei Patienten auf Intensivstationen, bei Patienten mit Hauterkrankungen oder bei abwehrgeschwächten Patienten. Bei gesunden Menschen treten nur selten MRSA-Infektionen auf. Die Übertragung von MRSA auf andere Personen wird vorwiegend durch körperlichen Kontakt und nicht durch die Luft vollzogen. Die Hauptursache für eine Infektion mit MRSA ist die Übertragung über die Hände. [Labor2013]

³ gramnegatives, mikroaerophiles Stäbchenbakterium, das den menschlichen Magen besiedeln kann

⁴ volatil (lat. volatilis) - flüchtig

Durch die Analyse der Atemluft oder der Umgebungsluft auf der Haut eines Menschen kann die Zahl der MRSA-Infektionen gesenkt werden. Ein Patient könnte so beispielsweise bereits bei der Krankenhauseinweisung auf eine MRSA-Infektion getestet werden. Wird eine Infektion des Patienten mit MRSA diagnostiziert, kann mit diesem Patienten sofort gesondert umgegangen werden, um das Wohl anderer Patienten nicht zu gefährden. Auch für andere Infektionsarten in der Human- aber auch Veterinärmedizin wäre eine solche Diagnostik möglich.

Folgend werden Methoden beschrieben, durch die eine Analyse der Ausatemluft sowie der Umgebungsluft und der darin enthaltenen VOCs möglich ist.

2.3 *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*

Eine Bakterienkultur des *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* (MAP) diene in einem Versuch als Probe. Aus diesem Grund werden in diesem Abschnitt wichtige Grundlagen bezüglich dieser Bakterienart vermittelt.

MAP ruft Paratuberkulose hervor. Paratuberkulose ist eine chronische entzündliche Darmerkrankung und tritt vorwiegend bei Wiederkäuern auf. Die Inkubationszeit beträgt mehrere Jahre. Klinische Symptome wie Durchfall, Gewichtsverlust sowie Erschöpfung treten erst in der letzten Phase der Erkrankung auf. [FLI2013] Davor wird der Erreger intermittierend über den Kot der Tiere ausgeschieden. Von einer Infektion mit MAP sind hauptsächlich Jungtiere betroffen. Paratuberkulose wird über den Handel mit scheinbar gesunden, jedoch infizierten Tieren deutschlandweit verbreitet und gehört zu den meldepflichtigen Tierkrankheiten. „Sie wurde bisher bei Rindern, Schafen, Ziegen, Rotwild, Rehwild und bei einem Esel nachgewiesen.“ [FLI2013] Besonders in der Milchviehhaltung führt die Paratuberkulose zu zum Teil erheblichen direkten und indirekten wirtschaftlichen Verlusten. Die Ursachen dafür sind die verminderte Milchleistung, der verringerter Schlachterlös infolge der Abmagerung, die erhöhte Krankheitsanfälligkeit und die Tierverluste. [FLI2013]

Der Zoonosecharakter⁵ von Paratuberkulose ist bislang umstritten. [FLI2013] Ob MAP in der Pathogenese bzw. der Entstehung und Entwicklung von Morbus Crohn⁶ eine Rolle spielt, wird derzeit untersucht.

Der Paratuberkulose-Erreger kann bisher direkt in Kotproben oder Organmaterial oder indirekt durch den Antikörpernachweis in Serum oder Milch nachgewiesen werden. Der direkte Erregernachweis (mikroskopische oder kulturelle Untersuchung, gekoppelt mit einem anschließenden Genomnachweis) und der Antikörpernachweis (ELISA⁷-Tests des Serums und der Milch) weisen lediglich eine eingeschränkte Sensitivität auf. Bei bis zu 2 – 3 Jahre alten Jungtieren ist eine Diagnose mit diesen Methoden nur unzureichend möglich. [FLI2013] Nur durch wiederholte Untersuchungen kann auch bei älteren Tieren die Sicherheit der Diagnose erhöht werden. „Der Antikörpernachweis in Blut- oder Milchproben auf Einzeltierbasis ist nur zur Erhebung des Bestandsstatus geeignet.“ [FLI2013] Mit keiner der etablierten diagnostischen Methoden sind sichere Prävalenzschätzungen möglich. [FLI2013] Eine Untersuchung der Ausatemluft der Tiere mit Hilfe der DMS oder GC-IMS könnte Abhilfe schaffen. Die Analysen können Aufschluss über eine mögliche Infizierung geben. Dazu kann auch die Luft über Kotproben der Tiere dienen. Die Analyse ist vor Ort und schnell durchführbar.

⁵ Zoonosen: Krankheiten/Infektionen, die zwischen Mensch und anderen Wirbeltieren übertragen werden können

⁶ Chronische entzündliche Darmerkrankung des Menschen

⁷ Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: immunologisches Verfahren zum Nachweis bestimmter Moleküle in Körperflüssigkeiten

2.4 Methoden zur Ausatemluftanalyse

Es gibt verschiedene technische Hilfsmittel und Methoden, die für die Analyse der Ausatemluft in Frage kommen. Zu diesen gehören die elektronische Nase, die Gaschromatografie sowie die Ionenmobilitätsspektrometrie, aus der wiederum die differenzielle Ionenmobilitätsspektrometrie hervorgegangen ist. Da für die vorliegende wissenschaftliche Arbeit lediglich die zwei letztgenannten Methoden von Bedeutung sind, werden diese näher erläutert. Die Gaschromatografie wird näher beschrieben, da in den Versuchen dem Ionenmobilitätsspektrometer provisorisch eine gaschromatografische Säule vorgeschaltet oder sogar mit einer Gaschromatografie-Ionenmobilitätsspektrometrie-Kombination (GC-IMS) gearbeitet wurde.

2.4.1 Ionenmobilitätsspektrometrie

Eine Möglichkeit, Ausatemluft zu analysieren, ist die Ionenmobilitätsspektrometrie. Folgend wird das Prinzip und die Funktionsweise der IMS erläutert.

2.4.1.1 Grundlagen

Die Besonderheiten der IMS sind ihre niedrigen Nachweisgrenzen im unteren ppb-Bereich, ihre kurze Analysezeiten und die Detektierbarkeit unterschiedlicher chemischer Substanzen bei Umgebungsdruck. [Siele1999] Zu den Hauptkomponenten eines IMS gehören der Reaktions- bzw. Ionisationsraum, in dem die Erzeugung von Ionen stattfindet, der Driftraum für deren Trennung und der Detektor am Ende der Driftstrecke zur Registrierung der Ionenladungen. Über ein Probeneinlasssystem gelangt das zu analysierende Trägergas in den Reaktionsraum. [Hill2010]

Die in dem Trägergas vorliegenden Analyten werden in dem Reaktionsraum des Ionenmobilitätsspektrometers durch eine Ionisationsquelle ionisiert. Dabei kann die Ionisation der Analyten auf verschiedenen Wegen erfolgen. Es können radioaktive Ionisationsquellen, wie beispielsweise das ^{63}Ni -Isotop als Betastrahler, UV-Quellen, Laser, wie Nd-YAG- und Excimer-Laser, und die Koronaentladung zum Einsatz kommen. [Schu2001]

Der eigentliche Messvorgang wird durch das periodische Öffnen und Schließen eines Schaltgitters zwischen Reaktions- und Driftraum eingeleitet. Als Gitter fungieren unter anderem Bradbury-Nielsen- oder Tyndall-Gitter. Die erzeugten Ionen gelangen so kontrolliert in die Driftstrecke und wandern in Richtung einer Elektrode. In der Driftstrecke ist ein äußeres, möglichst homogenes elektrisches Feld etabliert, das durch den stapelförmigen Aufbau der Messröhre (Reaktionsraum und Driftstrecke) aus Metall- und Isolatorringen ermöglicht wird. Ab dem Öffnen des Gitters wird mit einer bestimmten Messrate der Ionenstrom über einen Zeitraum gemessen. [Schu2001]

Aufgrund unterschiedlicher Ladung, Masse und/oder räumlicher Struktur erreichen die Ionen unterschiedliche Driftgeschwindigkeiten. Sie werden auf diesem Wege voneinander getrennt. Anschließend werden die Ionen von einem Detektor, üblicherweise einer Faraday-Platte, registriert. Vor dem Detektor befindet sich zusätzlich ein Apertur- bzw. Abschirmgitter, mit dessen Hilfe nur die aufprallenden Ionenladungen und keine herannahenden Ionen durch den Detektor registriert werden. Einer Peakverbreiterung wird damit entgegen gewirkt. Mit dem Auftreffen der Ionen auf der Platte wird ein Strom erzeugt, der das eigentliche Messsignal bildet. Der Strom wird zusätzlich durch einen Strom- bzw. Spannungswandler verstärkt. Analog-Digitalwandler verarbeiten das analoge Signal weiter. Das entstandene Ionenmobilitätsspektrogramm stellt die Signalintensität als Funktion der Driftzeit in ms dar. [Schu2001] Ein Schema zum Funktionsprinzip eines IMS ist in Abbildung 1 zu sehen.

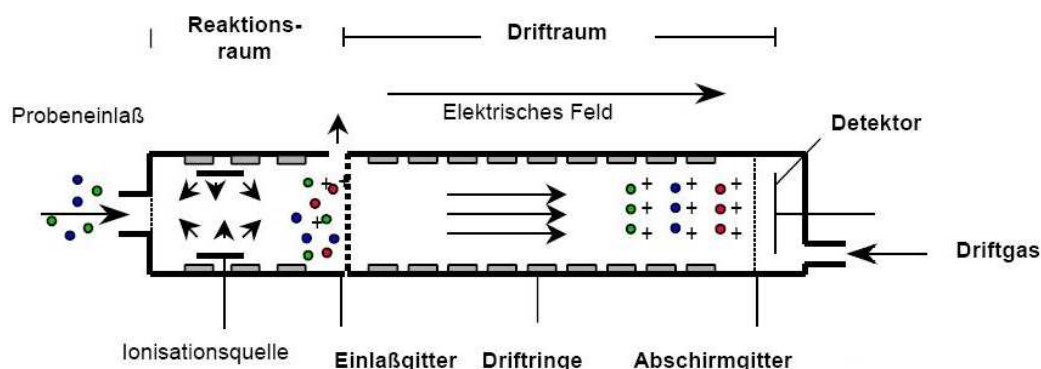


Abbildung 1: Funktionsprinzip eines IMS [Schu2001] S. 19

Die IMS findet heute meist in militärischen Bereichen Anwendung und eignet sich besonders zur Sprengstoffdetektion. Weitere Einsatzgebiete sind die Rauschgiftdetektion an Flughäfen oder allgemeine Anwendungen, bei denen die gesuchten Substanzen bereits bekannt sind. Seit einigen Jahren wächst das Interesse, die IMS auch in der Medizin als Methode zur Ausatemluftanalyse zu etablieren. Mit ihr sollen Krankheitsmarker zur Krankheitsfrühdagnostik bestimmt werden.

2.4.1.2 Ionenmobilität von Gasen

„Die Theorie der Ionenmobilität beschreibt die Bewegung von Ionen in einem neutralen Gas unter dem Einfluss eines schwachen elektrischen Feldes.“ [Schu2001] S. 29 Die Anzahl der Zusammenstöße der Ionen mit den neutralen Molekülen des Driftgases bei Umgebungsdruck definieren unter anderem die mittlere Geschwindigkeit v_D der Ionen. [Siele1999] Ist das in der Driftstrecke erzeugte elektrische Feld E_D nicht zu groß, ist v_D direkt proportional zu E_D [LoHi1990, MaMcD1987]. Folgende Gleichung beschreibt diesen Sachverhalt.

$$v_D = \frac{l_D}{t_D} = K \cdot E_D \quad (2.1)$$

Die Mobilität der Ionen wird durch den Proportionalitätsfaktor K beschrieben. l_D entspricht der Länge der Driftstrecke. t_D ist die Zeit, die die Ionen benötigen, um zu dem Detektor zu gelangen. Die Mobilität der Ionen kann wie in Gleichung (2.2) berechnet werden. Die Gleichung wurde von Revercomb und Mason basierend auf den gaskinetischen Gesetzen entwickelt. [ReMa1975]

$$K = \frac{3}{16} \cdot \frac{q}{N} \left(\frac{m + M_m}{m \cdot M_m} \right)^{\frac{1}{2}} \cdot \left(\frac{2\pi}{k_B \cdot T_{eff}} \right)^{\frac{1}{2}} \cdot \left(\frac{1 + \gamma}{\Omega_d(T_{eff})} \right) \quad (2.2)$$

„Die Mobilität K ist umgekehrt proportional zur Moleküldichte N des Driftgases.“ [Siele1999] S. 7 Die Moleküldichte N ändert sich laut idealem Gasgesetz dann, wenn sich die Temperatur T bei konstantem Druck p ändert. Bei Temperaturerhöhung, nimmt

die Moleküldichte N ab. Gleichzeitig nimmt dadurch die Geschwindigkeit v_D und verbunden damit die Mobilität K der Ionen zu. q beschreibt die Ladung des Ions, m die Ionenmasse, M_m die Masse der neutralen Driftgasmoleküle, k_B die Boltzmann-Konstante, T_{eff} die Temperatur des Gases, γ einen Korrekturfaktor, der für $m > M_m$ kleiner als 0,02 ist, und $\Omega_d(T_{eff})$ den Stoßquerschnitt zwischen Ion und Gasmolekül. „ $\Omega_d(T_{eff})$ hängt von der Größe beider Teilchenarten, ihrer Struktur und deren Polarisierbarkeit sowie der Temperatur ab.“ [Hill2010] S. 28 Laut Gleichung (2.2) ist die Mobilität abhängig von Masse und umgekehrt proportional zu der Größe der Ionen [Siele1999]. Es gilt:

$$K \propto \frac{1}{\mu^{\frac{1}{2}} \cdot \Omega_d} \quad (2.3)$$

Für die Masse wird die reduzierte Masse μ ($\mu = (m \cdot M_m) / (m + M_m)$), für die Größe der Ionen Ω_d eingesetzt. Für atomare Ionen ist Ω_d annähernd konstant. Die Mobilität hängt daher hauptsächlich von der Masse μ ab. Bei schweren Ionen bzw. Molekülionen hingegen wird die Ionenmobilität von Ω_d bestimmt, da μ (laut $\mu \approx M_m$ wenn $m \gg M_m$) nahezu konstant ist. Aus der Zunahme des Stoßquerschnittes bei Molekülionen resultiert die Abnahme der Geschwindigkeit der Ionen und damit einhergehend die Abnahme der Mobilität. Aufgrund unterschiedlicher Stoßquerschnitte können isomere organische Verbindungen mittels Ionenmobilitätsspektrometrie voneinander differenziert werden. [Siele1999]

Die Diffusion hat ebenfalls Einfluss auf die für die Ionenarten spezifischen Driftzeiten. So kommt es bei gleichartigen Ionen zu einer Driftzeitverteilung anstatt zu einer diskreten Driftzeit. Mit Hilfe der Nernst-Townsend-Einstein-Beziehung wird das Verhältnis zwischen der Diffusion und der Mobilität K beschrieben [Siele1999]:

$$K = \frac{q \cdot D}{k_B \cdot T} \quad (2.4)$$

D stellt dabei den Diffusionskoeffizienten dar. Die Gültigkeit der Nernst-Townsend-Einstein-Beziehung ist für Gase sowie Flüssigkeiten gegeben. Sie gilt ebenso für alle Systeme, in denen geringe elektrische Gradienten sowie geringe Konzentrationsgradienten auftreten und die sich quasi annähernd im Gleichgewicht befinden. [Siele1999]

An dieser Stelle wird auf Quelle [Siele1999] verwiesen, die sich ausführlicher mit dieser Thematik beschäftigt. Ein Beispiel eines Ionenmobilitätsspektrometers ist das Standalone-IMS der Firma STEP aus Pockau. Unter Ionenmobilitätsspektrometer der Firma STEP3.1 werden physikalische und chemische Vorgänge speziell für dieses IMS erläutert.

2.4.1.3 Differenzielle Ionenmobilitätsspektrometrie

Eine Weiterentwicklung der IMS ist die differenzielle Ionenmobilitätsspektrometrie (DMS). Die folgend beschriebenen Vorgänge werden in Abbildung 2 grafisch dargestellt. Die Analyse der Ionen erstreckt sich bei der DMS über einen weiten Feldstärkenbereich. Dabei werden Änderungen der Ionenmobilität bei verschiedenen Feldstärken erfasst. Diese Änderungen wiederum ergeben eine Funktion. Die Ionentrennung bei Umgebungsdruck in der DMS beruht auf der nichtlinearen Abhängigkeit des Mobilitätskoeffizienten $K(E)$ in einem elektrischen Feld, das größer als 30 000 V/cm ist. [NaCo2006] Es gilt:

$$K(E) = K(0)[1 + \alpha(E/N) \cong K(0)[1 + \alpha_2(E/N)^2 + \alpha_4(E/N)^4 + \dots] \quad (2.5)$$

$K(0)$ ist der Mobilitätskoeffizient für elektrische Felder unter 2 400 V/cm bei $p_0 = 101,3$ kPa. Die α_i -Parameter sind Funktionen, die die Abhängigkeit von K vom elektrischen Feld beschreiben. N ist die totale Gasdichte in mol/cm³. [NaCo2006] Die physikalische Bedeutung von α wird durch Formel (2.6) verdeutlicht.

$$\alpha(E/N) = \frac{K(E) - K(0)}{K(0)} \quad (2.6)$$

α beschreibt die Veränderungen des Mobilitätskoeffizienten mit der elektrischen Feldstärke bei gleich bleibender Gasdichte. α kann positiv oder negativ gekennzeichnet sein und gibt die Richtung der Veränderung des Mobilitätskoeffizienten (und der Kompensationsspannung) an.

Die Ionenanalyse und -trennung findet statt, wenn Ionen mittels Gasfluss zwischen zwei parallelen Platten bewegt werden. Über den beiden Platten liegt ein elektrisches Feld von bis zu 30 kV/cm senkrecht zum Gasfluss an. [NaCo2006]

Dieses Feld setzt sich aus einem asymmetrischen, hochfrequenten Trennungsfeld (RF^8) und einem schwächeren Gleichspannungskompensationsfeld (V_C) zusammen. Das asymmetrische RF-Feld führt zu Oszillationen in der Bewegung der in das Filtergebiet eintretenden Ionen. [Sion2005] Aufgrund von Ionenverschiebungen während der Vorwärts- und Rückwärtszyklen der Wellenform, führen die wiederholten Oszillationen der Ionen zwischen den Platten wiederum zu deren Annäherung an eine der beiden Platten. Diese Ionenverschiebungen resultieren aus den Geschwindigkeitsänderungen der Ionenmobilität $K(E)$, die wiederum durch Änderungen des elektrischen Feldes hervorgerufen. Dadurch sind die Ionenverschiebungen unterschiedlich. [NaCo2006] Gleichung (2.7) beschreibt die Geschwindigkeit der Ionen.

$$v(t) = K(\vec{E}(t)) \cdot E(t) \quad (2.7)$$

Bleibt K für alle Feldstärken konstant, führt die RF-Wellenform $E(t)$ nicht zu einer Ionenverschiebung. Bleiben die Mobilitätskoeffizienten $K(E)$ bei Änderungen der Feldstärke annähernd gleich, passieren die Ionen den schmalen Kanal zwischen den beiden Platten bei einer Kompensationsspannung von rund Null Volt. Die Ionen werden detektiert. [NaCo2006]

Ein Ion kollidiert nach einigen Zyklen mit einer der Platten und wird neutralisiert, wenn es zuvor eine Querverschiebung erfährt. Diese Querverschiebung wird mit einer zusätzlich über den beiden Platten angelegten Kompensationsspannung (V_C) reguliert. Sie ermöglicht den zu untersuchenden Ionen das Durchqueren des Ionenfiltergebietes. Das Abtasten der Kompensationsspannung mit der Zeit wird verwendet, um ein differenzielles Ionenmobilitätsspektrogramm zu erzeugen. [NaCo2006] Die Ionen passieren bei einer ionenspezifischen V_C den Kanal zwischen den beiden Platten und gelangen so zum Detektor, z. B. zu einem Elektrometer. Aus der dort stattfindenden Ionensammlung resultiert die Erzeugung eines Stroms. Während der Verweilzeit im analytischen Gebiet erfahren die Ionen einen konstanten V_C -Wert durch Verlangsamen der V_C -Scanrate. [NaCo2006]

⁸ engl. radiofrequency - Hochfrequenz

An dieser Stelle wird auf eine Quelle verwiesen. Die physikalischen Zusammenhänge werden in Quelle [NaCo2006] detailliert dargestellt und erläutert.

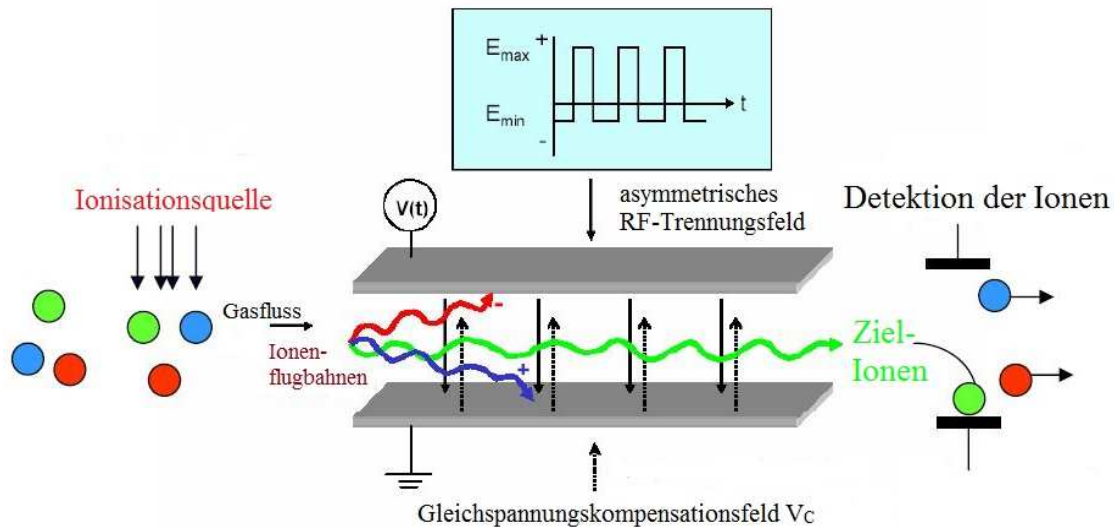


Abbildung 2: Funktionsweise eines differentiellen Ionenmobilitätsspektrometers [Sion2005]

Mit Hilfe der DMS können Informationen über die Richtung und den Umfang der Änderungen des Mobilitätskoeffizienten gewonnen werden. Ein IMS dagegen zeigt lediglich den absoluten Wert der Ionengeschwindigkeit bei einem niedrigen elektrischen Gleichstrom-Feld auf. Die Driftzeit für einen Ionenschwarm ist dabei der wichtige Parameter. „Bei der DMS hingegen ist die Kompensationsspannung für das Passieren der Ionen durch den Driftkanal entscheidend.“ [Hill2010] S. 32 Eine gemeinsame Eigenschaft der beiden Methoden ist die Ionencharakterisierung basierend auf der Ionengeschwindigkeit. Mit Hilfe der DMS können chemische Substanzen, wie Sprengstoffe, Kampfstoffe oder toxische Chemikalien aufgespürt und genauer analysiert werden. Aber auch andere organische und anorganische Substanzen sowie biologische Materialien werden detektiert und identifiziert. [NaCo2006]

2.4.2 Gaschromatografie

Der Begriff „Chromatografie“ beschreibt die Trennung einer Mischung von Verbindungen bzw. gelösten Substanzen in getrennte Einzelkomponenten. Eine einfachere qualitative Identifizierung und quantitative Messung dieser Einzelkomponenten wird damit ermöglicht. Die Gaschromatographie (GC) ist eine von mehreren chromatografischen Techniken. Mit ihr können rund 10 – 20 % aller bekannten Verbindungen analysiert werden. [Agil2007]

2.4.2.1 Allgemeine Grundlagen

Die Gaschromatografie ist ein physikalisch-chemisches Trennverfahren und beruht auf der Verteilung und/oder Adsorption. Die zu trennenden Substanzen, die sogenannten Analyten, müssen sowohl gasförmig als auch thermisch stabil sein oder sich durch Verdampfen möglichst unzersetzt in den gasförmigen Zustand überführen lassen.

„Der erste Schritt im GC-Prozess ist die Zufuhr eines oder mehrerer sehr reiner Gase zum GC.“ [Agil2007] S. 2 Eines der Gase, das sogenannte Trägergas, fließt durch den Injektor in die Säule und den Detektor. Die Probe wird in den Injektor injiziert, der üblicherweise auf 150 - 250 °C geheizt wird. Die flüchtigen Probenkomponenten treten in die Dampfphase über. Die gasförmigen oder verdampften Substanzen werden anschließend mit Hilfe eines Trägergasstroms nacheinander durch eine Trennsäule transportiert, die das Kernstück des Gaschromatografen darstellt. [MlVo2010] Sie befindet sich in einem temperaturkontrollierten Ofen und kann dort Temperaturen bis zu 450 °C erreichen.

Wie bereits erwähnt, ist unter dem Begriff „Chromatografie“ ein Trennverfahren zu verstehen, bei dem sich die Analyten zwischen zwei nicht mischbaren Phasen⁹, einer stationären und einer mobilen Phase, verteilen. [Kolb2002] Die stationäre Phase verbleibt immer an einer Stelle, nämlich in der Trennsäule. Die mobile Phase, das Trägergas, hingegen durchströmt die chromatografische Trennstrecke in einer Richtung, sodass der Stofftransport gewährleistet wird. [Kolb2002]

⁹ stofflicher Aggregatzustand; besteht aus einem Feststoff oder Gas

Je nach Aggregatzustand der stationären Phase wird in verschiedene Arten der Gaschromatografie unterschieden. Von der Gasadsorptionschromatografie ist die Rede, wenn die stationäre Phase ein festes Adsorptionsmittel ist, an dessen aktiver Oberfläche die flüchtigen Analyten durch reversible Adsorption kurzfristig festgehalten werden. Die stationäre Phase kann aber auch aus einer nicht-flüchtigen Flüssigkeit bestehen und als dünner Film auf der Trägeroberfläche haften oder chemisch an ihr gebunden sein. Die flüchtigen Analyten lösen sich teilweise in ihr. In diesem Fall handelt sich um die Gasverteilungschromatografie. [Hill2010]

Die Probenkomponenten passieren die Säule mit unterschiedlichen Geschwindigkeiten, die hauptsächlich von ihren physikalischen Eigenschaften bestimmt werden. Auch die Temperatur und Art der Säule spielen eine wichtige Rolle.

Die am schnellsten wandernde Komponente verlässt (eluiert) die Säule zuerst. Die verbleibenden Komponenten folgen in einer entsprechenden Reihenfolge. [Agil2007] „Am Ende der Trennsäule befindet sich ein Detektor, der die Änderung der Zusammensetzung des Trägergases beim Erscheinen einer getrennten Substanz registriert.“ [Hill2010] S. 11 Als Detektor werden beispielsweise Elektroneneinfangdetektoren oder Massenspektrometer verwendet. „Diese Änderung wird [dann] in ein elektrisches Signal umgewandelt und über einen Verstärker an ein Datensystem, z. B. einen Computer, zur weiteren Auswertung übermittelt.“ [Hill2010] S. 11 Das Endergebnis der Analyse ist ein Chromatogramm.

Die Anzahl der darin erkennbaren Peaks entspricht der Anzahl der aufgetrennten Probenkomponenten. [MlVo2010] „Die Peakgröße und die Retentionszeit werden dazu verwendet, Substanzen qualitativ und quantitativ zu bestimmen.“ [Agil2007] S. 3 Die Retentionszeit in einem Chromatogramm ist die Zeit, die ein Analyt zum Passieren der Säule benötigt. Eine bestimmte Verbindung weist immer dieselbe Retentionszeit auf, wenn die Säule und alle chromatografischen Bedingungen konstant sind. [Agil2007] Das ideale Chromatogramm besteht aus nahe beieinander liegenden Peaks. Diese sollten sich dabei aber nicht überlappen bzw. koeluiieren. Eine exakte Quantifizierung solcher koeluiierenden Peaks und die Identifizierung zweier Peaks, die dieselbe Retentionszeit besitzen, sind nicht möglich. Die Peakgröße stimmt mit der Menge der Komponenten in

der Probe überein. Je höher die Konzentration der Komponenten, umso größere Peaks werden im Chromatogramm dargestellt.

1971 verwendete Linus Pauling die Gasverteilungschromatografie, bei der er mehr als 200 Stoffe in der Ausatemluft entdeckte. [PaRo1971] Die GC wird in vielen Bereichen angewendet. Hauptsächlich werden vor allem Substanzanalysen mit ihr durchgeführt. Sie wird auch zur Ausatemluftanalyse eingesetzt.

2.4.2.2 Retentionszeiten von Substanzen

Die Trennung von Substanzen mit Hilfe eines Gaschromatografen wird aufgrund ihrer unterschiedlichen Retentionszeiten hervorgerufen. Die Retention wird folgend am Beispiel der Gasverteilungschromatografie erklärt. Das Trägergas transportiert die Stoffmoleküle durch die Trennstrecke. Zur Veranschaulichung wird davon ausgegangen, dass je ein Molekül der mobilen Phase bzw. des Trägergases und des flüchtigen Analyten gleichzeitig in die Trennsäule eintreten. Das zu analysierende Molekül wandert mit der Geschwindigkeit des Trägergases, solange es sich darin aufhält. Das Molekül des Analyten diffundiert in die stationäre Phase hinein und wieder heraus oder es wird aufgrund der Adsorption an der Oberfläche der stationären Phase kurzzeitig festgehalten. Das betreffende Molekül wird dem Transport zeitweise entzogen, während das Molekül der mobilen Phase stetig durch die Säule wandert. Das Molekül des Analyten durchquert die Trennstrecke somit langsamer als das Molekül der mobilen Phase. Die auftretende Verzögerung der Wandergeschwindigkeit wird als chromatografische Retention bezeichnet. [Hill2010]

Die Moleküle des Analyten pendeln permanent zwischen den beiden Phasen hin und her. Folge dessen ist die Aufteilung des flüchtigen Analyten zwischen den beiden Phasen. Dieser Prozess wird als Verteilungsvorgang bezeichnet. Wird der Fluss des Trägergases beendet, so stellt sich aufgrund der beidseitigen Diffusion ein Gleichgewicht ein. Bei erneuter Trägergaseinströmung werden die Moleküle von der Strömung erfasst. Die Molekülansammlungen werden durch Querdiffusion zusammengehalten. An der Rückfront der Molekülansammlung können die Moleküle nur noch von der stationären in die Gasphase übergehen. Das gegensätzliche Verhalten

tritt an der Front dieses Molekülhaufens auf. Dort ist nur der Übergang von der Gas- in die stationäre Phase möglich. Die Moleküle, die zurückdiffundieren können, sind dort noch nicht vorhanden. Ein Gleichgewichtszustand tritt dort auf, wo sich die beiden Molekülansammlungen überlappen. Die Molekülzone wird mit Hilfe des Trägergases durch die Trennsäule transportiert. Sie ist dabei langsamer als jenes selbst. [Kolb2002] „Die gaschromatografische Wanderung wird im Grunde genommen durch die permanente Störung des Gleichgewichts hervorgerufen.“ [Kolb2002] S.7 Am Ende der Trennsäule befindet sich der Detektor, auf den die Molekülhaufen auftreffen. Sie werden als Peak registriert. Eine schematische Darstellung des Verteilungsvorgangs und der gaschromatografischen Wanderung sind in Abbildung 3 zu finden.

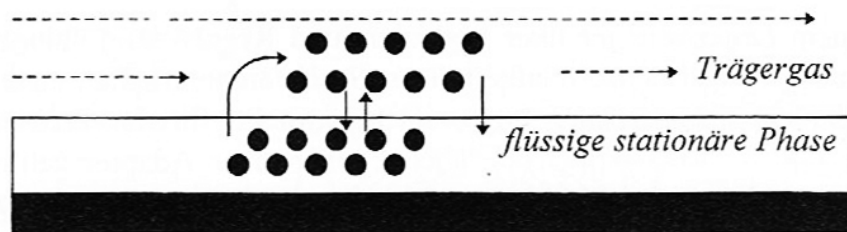


Abbildung 3: Verteilungsvorgang und gaschromatografische Wanderung [Kolb2002] S. 6

Das Gleichgewicht zwischen den in die stationäre Phase hineindiffundierenden und zurückdiffundierenden Molekülen wird durch die Gleichgewichtskonstante, auch Verteilungskonstante K_C genannt, beschrieben. Sie gibt an, wie groß die Konzentration eines Stoffes in der stationären Phase (C_S) im Verhältnis zur Konzentration eines Stoffes in der mobilen Phase (C_M) ist. [Kolb2002]

Das Volumen der mobilen Phase (V_M) stimmt mit dem der Gasphase (V_G) überein. Das Mengenverhältnis k ($W_{i(S)}/W_{i(M)}$) des Analyten (i) in den beiden Phasen und deren Volumenverhältnis (V_G/V_S) setzen sich zu der Verteilungskonstante K_C zusammen. Das Mengenverhältnis k wird auch als Retentionsfaktor bezeichnet. Das Phasenverhältnis (β) stellt eine wichtige Säulenkonstante dar. [Kolb2002] In folgenden Gleichungen werden diese Verhältnisse für eine flüssige stationäre Phase beschrieben:

$$k = \frac{W_{i(S)}}{W_{i(M)}} \quad (2.8)$$

$$\beta = \frac{V_M}{V_S} = \frac{V_G}{V_S} \quad (2.9)$$

$$K_c = k \cdot \beta \quad (2.10)$$

Unterscheiden sich die Verteilungskonstanten zweier Substanzen, werden diese voneinander getrennt. Als Säulenkonstante ist das Phasenverhältnis für alle Stoffe gleich. Entscheidend ist hierbei das Mengenverhältnis k . Für die Erläuterung wird auch hier ein Beispiel gewählt. k wird festgelegt mit $k = 2$. Die Substanzmenge ist in der stationären Phase zweimal so groß wie die in der Gasphase. Auf jedes Molekül in der Gasphase treffen somit zwei Moleküle in der stationären Phase. Dieses Gleichgewicht zwischen den beiden Phasen muss aufrechterhalten werden. Für jedes Molekül, das aus der Gasphase in die stationäre Phase übergeht, diffundiert ein anderes aus der stationären in die Gasphase. Bevor ein Molekül in die Gasphase übergeht, befindet es sich zweimal so lange in der stationären Phase. Das Mengenverhältnis k beschreibt damit auch die Verweilzeiten einer Substanz in den Phasen. Die Verweilzeiten wiederum bestimmen das Retentionsverhalten eines Stoffes. [Kolb2002]

Die gesamte Retentionszeit t_R bzw. die gesamte Verweildauer eines Stoffes in der Trennsäule erstreckt sich über die Zeit von der Probenaufgabe bis zum Auftreffen der Ionen auf dem Detektor. [Hill2010] Die Verweilzeiten des Stoffes in der stationären und in der Gasphase können mit Hilfe der Gesamtretentionszeit ermittelt werden. Für die Bestimmung der Verweilzeit in der Gasphase wird ein Stoff, der sich in der stationären Phase nicht löst, verwendet. Er wandert somit mit der Geschwindigkeit des Trägergases durch die Säule. Ein solcher Stoff kann beispielsweise ein Inertgas wie Luft sein, wenn eine flüssige stationäre Phase vorliegt. Damit geht die Verwendung eines Detektors einher, der den Luftpeak bzw. den Inertpeak mit der Durchflusszeit t_M ermittelt. [Kolb2002]

Die Bestimmung der Verweilzeit eines Stoffes in der flüssigen stationären Phase dagegen ist nicht unmittelbar möglich. Sie ergibt sich aus der Differenz zwischen der Gesamtretentionszeit und der Durchflusszeit. Diese Verweilzeit wird als reduzierte

Retentionszeit t'_R bezeichnet. [Kolb2002] In den Gleichungen (2.11) und (2.12) werden die Zusammenhänge dargestellt:

$$t'_R = t_R - t_M \quad (2.11)$$

$$k = \frac{W_{i(S)}}{W_{i(M)}} = \frac{t'_R}{t_M} \quad (2.12)$$

Die Trennbarkeit zweier Stoffe lässt sich ebenfalls mit Hilfe des Verhältnisses der reduzierten Retentionszeiten beschreiben. Die Grundlage für eine qualitative Identifizierung und eine quantitative Analyse sind die bestimmten Retentionszeiten. Nur mit Kenntnis derer kann eine Peakerkennung stattfinden. [Kolb2002] Weitere und ausführliche Informationen bezüglich der Retention von Substanzen können in Quelle [Kolb2002] nachgelesen werden.

2.4.2.3 Trennsäulen

In der GC kommen gepackte Trennsäulen und Kapillartrennsäulen zum Einsatz. Eine gepackte Säule ist ein Glas- oder Metallrohr, das mit einem festen Trägermaterial gefüllt ist. Sie zeichnet sich durch die hohe Stabilität über längere Zeit und die robuste Bauart aus. Teilweise wird dieser Trennsäulentyp deshalb heute noch in der Gaschromatografie verwendet. Das Trennvermögen dieser Säulen ist jedoch stark begrenzt. [MIVo2010] Seit 1957 werden auch sogenannten Kapillartrennsäulen für die GC genutzt, da deren Trennleistung und Handhabung deutlich besser sind. [Kolb2002] Es können wesentlich längere und flexible Säulen eingesetzt werden, die jedoch eine sehr kleine Probenkapazität und damit auch eine geringere Nachweisempfindlichkeit aufweisen.

Für die Untersuchungen der vorliegenden wissenschaftlichen Arbeit werden Kapillartrennsäulen sowohl in der DMS als auch für die GC-IMS-Kopplung verwendet. „Eine GC-Kapillarsäule besteht aus zwei Hauptteilen: Kapillare und stationäre Phase.“ [Agil2007] S. 4 Auf der inneren Wand einer Kapillare ist ein dünner Film eines hochmolekularen, thermisch stabilen Polymers aufgebracht. Diese Polymerbelegung

stellt die stationäre Phase dar. [Agil2007] „Die Wahl der Trennsäulen ist von vielen Faktoren abhängig. Rein analytische und chromatografische Kriterien spielen eine wichtige Rolle, aber auch instrumentelle Aspekte sind von entscheidender Bedeutung.“ [Hill2010] S. 16 Entscheidend für die Auswahl einer GC-Säule sind folgende Punkte [Agil2007]:

- Art der stationäre Phase: kritischste Entscheidung basierend auf Faktoren wie Selektivität, Polarität und Phenylanteil
- Wirkung des Säulendurchmessers auf die Trennleistung, die Retention der Analyten, den Säulenvordruck und die Trägergasflussraten
- Änderungen der Retention, des Säulenvordrucks und des Säulenblutens¹⁰ sowie der Kosten durch Änderung der Säulenlänge
- Unterschiede zwischen Säulen mit dicken oder dünnen Filmen bezüglich der Kapazität, Inertheit, Bluten und oberer Temperaturgrenzwerte

¹⁰ Effekt bei GC-Säulen, bei dem die Säule geringe Anteile ihrer stationären Phase verliert; Ursache ist übermäßige thermische Belastung der Säule; Durch Säulenbluten: Alterung der Trennsäulen, starkes Signalauschen und hohes Untergrundrauschen bei der Detektion oder nachgeschalteten Analyseverfahren [Chem2013]

3 Material und Methoden

In diesem Kapitel werden Materialien und Methoden vorgestellt, die für diese Arbeit zum Einsatz kamen.

3.1 Ionenmobilitätsspektrometer der Firma STEP

Mit dem STEP Ionenmobilitätsspektrometer kann eine Vielzahl von toxischen Gasen und Dämpfen detektiert werden. Es kann als stationäres Gerät für die kontinuierliche Prozesskontrolle in der Industrie eingesetzt werden, aber auch als Analysengerät zur Bestimmung aktueller Umweltbelastungen sowie zur Fahndung nach Gefahrstoffen. [STEP2012] Ein aktuelles Standalone IMS der Firma STEP ist in Abbildung 4 dargestellt.

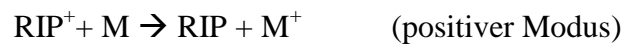


Abbildung 4: Standalone IMS der Firma STEP [STEP2012] S. 1

„Das physikalische Messprinzip beruht auf den unterschiedlichen Driftgeschwindigkeiten von Ionen im elektrischen Feld in Luft bei Normaldruck.“ [STEP2012] S. 4 Die zu analysierende flüchtige Probe gelangt in den Reaktions- bzw. Ionisationsraum der Messröhre und wird dort mittels schwacher radioaktiver Strahlung ionisiert. Komplexe Ionen des Typs NH^+ , NO^+ und $(\text{H}_2\text{O})_n\text{H}^+$ werden erzeugt. Sie bilden den positiven Reaktant Ion Peak bzw. Reaktionsionenpeak (RIP^+) im Spektrum.

Negative Ionen des Typs O_2^- und $(\text{H}_2\text{O})_m^-$ setzen sich zu dem negativen Reaktionsionenpeak (RIP^-) zusammen. Die den RIP^+ und RIP^- bildenden Ionen sind permanent vorhanden. [STEP2012]

Befinden sich Substanzmoleküle wie beispielsweise phosphororganische Verbindungen oder halogenierte Kohlenwasserstoffe in der Luft, so findet ein Ladungstransfer von den Reaktionsionen zu den Substanzmolekülen statt. Vereinfacht kann dieser wie folgt beschrieben werden:



Die Substanzmoleküle sind hier mit dem Symbol M charakterisiert. Der Ladungsaustausch von den zu analysierenden Molekülen mit Luftionen ist abhängig von den Protonen- bzw. Elektronenaffinitäten der Moleküle. Je größer die Affinität¹¹, desto niedriger ist die Nachweisgrenze für ein Molekül.

Durch am Einlassgitter anliegende elektrische Impulse werden die erzeugten Ionen aus der Ionenquelle in die Driftstrecke der Messzelle überführt. Aufgrund ihrer verschiedenen Mobilitäten bewegen sich die Ionen in dem homogenen elektrischen Feld mit unterschiedlichen Driftgeschwindigkeiten. Die Ionenmobilität wird durch Masse, Ladung, Ladungsverteilung, Querschnitt, Struktur und Bindungen, etc. bestimmt. Die Mobilität bzw. die Beweglichkeit ist generell von Temperatur und Druck abhängig. Die Ionen treffen zu unterschiedlichen Zeitpunkten, zu ihren individuellen Driftzeiten, auf die Kollektorelektrode und bewirken so ein Stromsignal. Diese Driftzeiten werden dann zur Identifizierung der Molekülionen M^\pm genutzt. Die Größe des Stromsignals ist proportional zur Konzentration der Moleküle in der Luft. [STEP2012] Dieses Prinzip wird in Abbildung 5 dargestellt.

¹¹ Bestreben von Atomen und Molekülen, Wechselwirkungen einzugehen

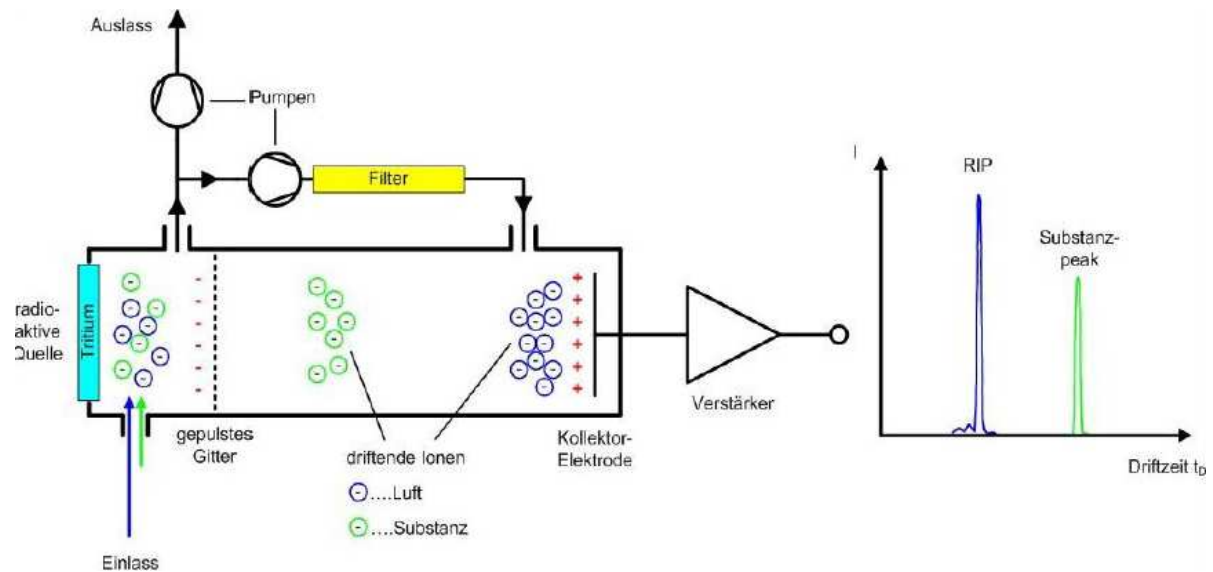


Abbildung 5: Messprinzip STEP IMS [STEP2012] S. 5

Der Kollektorstrom wird anschließend verstärkt und digitalisiert. Die Daten werden mittels eines 32 Bit-Prozessors verarbeitet und an einen integrierten Mikrorechner übertragen, der die Weiterverarbeitung der Daten übernimmt. Auf dem integrierten Display werden die Spektren bzw. Messergebnisse dargestellt. [STEP2012]

Bilden Ionen einer Substanz einen separaten Peak im Spektrogramm aus, ist eine exakte Identifizierung der Substanz möglich. [STEP2012]

Mit Hilfe der IMS können verschiedenste Substanzen detektiert werden. Folgend werden Beispiele genannt, die gleichzeitig der Darstellung wichtiger Anwendungsgebiete der IMS dienen sollen. Detektiert und/oder analysiert werden können verschiedenste [STEP2012]:

- Schornsteingase
- Halogene und halogenierte Kohlenwasserstoffe
- Nitroverbindungen (Sprengstoffe)
- Chemische Kampfstoffe
- Aromate
- Lösungsmittel
- Geruchsbelästigungen

3.1.1 Aufbau und Messablauf

Das IMS wird in drei Hauptteile unterteilt. Der erste Teil ist das Einlasssystem. Die zu analysierenden Substanzen in der Umgebungsluft werden mit Hilfe einer Pumpe kontinuierlich angesaugt, gelangen in das Einlasssystem und verlassen das System am Gasausgang. Die zu messende Luft wird periodisch oder manuell in den internen Gaskreislauf eingekoppelt. Dieser passiert die in dem Reaktionsraum liegende Ionisationsquelle. Der Zyklus der Probennahme ist prozessorgesteuert und kann in einem breiten Bereich variiert sowie nach vorgegebenen Zeitfenstern automatisiert werden. [STEP2012]

Das IMS verfügt über einen internen Gaskreislauf. Die Kreislauftpumpe sorgt dafür, dass trockene Luft als Driftgas (400 ml/min) sowie als Analysegas (40 ml/min) zur Verfügung gestellt wird. Das Analysegas transportiert die zu messende Probe vom Einlasssystem zur Ionisationsquelle. „Nach Durchströmen der Messzelle passieren beide Gasströme den Kreislaufterfilter.“ [STEP2012] S. 6 Wasserdampf und die zu analysierende Probe werden absorbiert. [STEP2012] Der Kreislaufterfilter kann bis zu 10 % seiner Trockenmasse an Wasser aufnehmen. Das Ansteigen der Feuchtigkeit im internen Gaskreislauf über 10 ppm führt zu einer Verschlechterung der Auflösung des Ionenmobilitätsspektrometers. Der Kreislaufterfilter muss bei Dauerbetrieb nach sechs Monaten regeneriert werden. [STEP2012]

Die Messzelle besteht aus einem Reaktions- bzw. Ionisationsraum und der Driftstrecke. In dem Reaktionsraum befindet sich eine Strahlungsquelle. Diese besteht beim STEP IMS aus einer Edelstahlunterlage, auf die eine Titanschicht aufgedampft ist. In dieser Titanschicht sind 5 ... 500 MBq Tritiumgas absorbiert. [STEP2012]. Zur Abriebsicherung ist darüber zusätzlich eine SiO₂-Schicht aufgedampft, auf der sich wiederum eine leitfähige Aluminiumschicht befindet. „Die Strahlungsquelle dient als eine der Elektroden der IMS-Messzelle und verursacht Ionisationsprozesse in der angrenzenden Gasschicht.“ [STEP2012] S. 7 Ein Einlassgitter trennt den Ionisationsraum von der Driftstrecke. Das Driftrohr ist ein Zylinder mit einer Länge von 50 mm und einem Durchmesser von 10 mm Durchmesser, in welchem Potentialringe und Isolatorringe wechselseitig aufeinander folgen. [STEP2012] Das umgebende elektrische Feld hat eine Feldstärke von 400 V/cm. Der Driftraum wird von einer

Kollektorelektrode abgeschlossen. Die Kollektorelektrode wird durch ein Aperturgitter geschützt und ist direkt mit dem Verstärker verbunden. Die IMS-Messzelle, der interne Gaskreislauf und das Kreislauffilter bilden eine kompakte Einheit. [STEP2012] Der Aufbau der IMS-Messzelle wird in Abbildung 6 dargestellt.

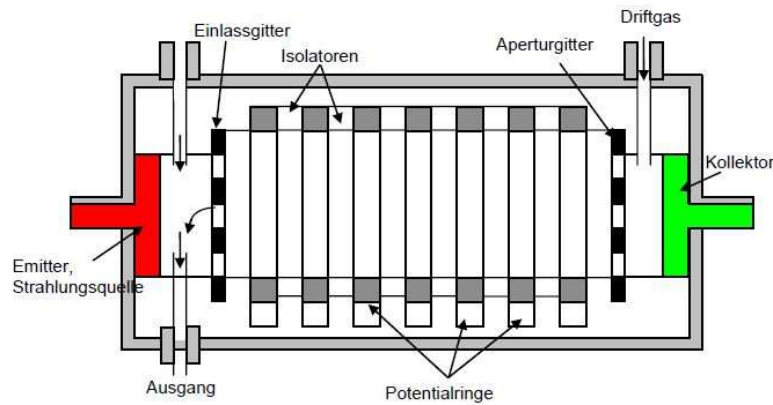


Abbildung 6: Aufbau der IMS-Messzelle [STEP2012] S. 6

Der elektrische Teil des IMS besteht aus einem Pulser, einem Verstärker, sowie einem A/D-Wandler, einem Mikroprozessor und einem internen Mikrorechner. Die Pulsbreite des Pulsers am Einlassgitter beträgt ca. $60\ \mu\text{s}$, die Pulshöhe $500\ \text{V}$. Die Pulse bieten die Möglichkeit, 30-40 % der erzeugten Ionen in die Driftstrecke zu drücken. Durch dieses Pulsregime verbessern sich Auflösung und Empfindlichkeit des IMS. Der Ionenstrom wird mittels eines Impedanzwandlers verstärkt. Seine Zeitkonstante beträgt ca. $50\ \mu\text{s}$, der Verstärkungsfaktor $5 \cdot 10^9\ \text{V/A}$. [STEP2012] Das analoge Signal vom Verstärkerausgang kann direkt auf einem Oszilloskop visualisiert werden. Jedes Ionenmobilitätsspektrometer der Firma STEP verfügt über drei BNC-Buchsen, mit denen Messsignal, Triggerimpuls und der verzögerte Triggerimpuls angezeigt werden können. „Das analoge Messsignal wird nachfolgend für die Weiterverarbeitung mit hoher Auflösung digitalisiert.“ [STEP2012] S. 7

Die Steuerung der elektronischen Baugruppen des IMS erfolgt mittels eines 32Bit-Texas-Instruments-Mikroprozessors. Er übernimmt die Gerätesteuerung, die Erfassung des Messsignals, die Signalvorverarbeitung und die Datenübergabe an übergeordnete Rechensysteme. Für die Gerätesteuerung und Signalverarbeitung ist im IMS zusätzlich ein Mikrorechner (pITX) implementiert. [STEP2012]

3.1.2 Struktur der Messdaten

Mit dem Beginn des Abspeicherns der Messung wird pro Sekunde ein Spektrogramm aufgezeichnet. Die Spektrogramme geben an, wie groß der Kollektorstrom (in V) zu einer bestimmten Driftzeit (in ms) ist. Der Abstand zwischen zwei Messpunkten auf der Zeitachse erstreckt sich bei der Darstellung der Spektren als Funktion der Zeit über $10\text{ }\mu\text{s}$. Die Gesamtlänge bzw. die Dauer des Spektrums beträgt $20,48\text{ ms}$. [STEP2012] Ein Beispiel für ein IMS-Spektrogramm ist in Abbildung 7 dargestellt.

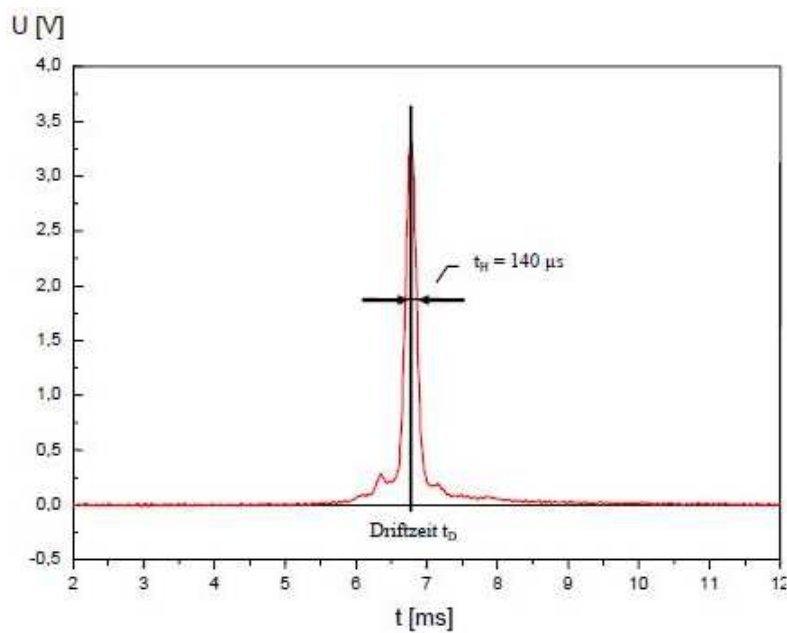


Abbildung 7: Beispiel für die grafische Darstellung eines positiven Spektrogramms mit der Zeitachse [STEP2012]

Eine weitere Möglichkeit der Darstellung ist die Zuordnung der Spannungswerte zu bestimmten Messpunkten n . Das Spektrum besitzt 2048 Werte, welche die x-Achse des Diagramms unterteilen. Zu sehen ist dies in Abbildung 8.

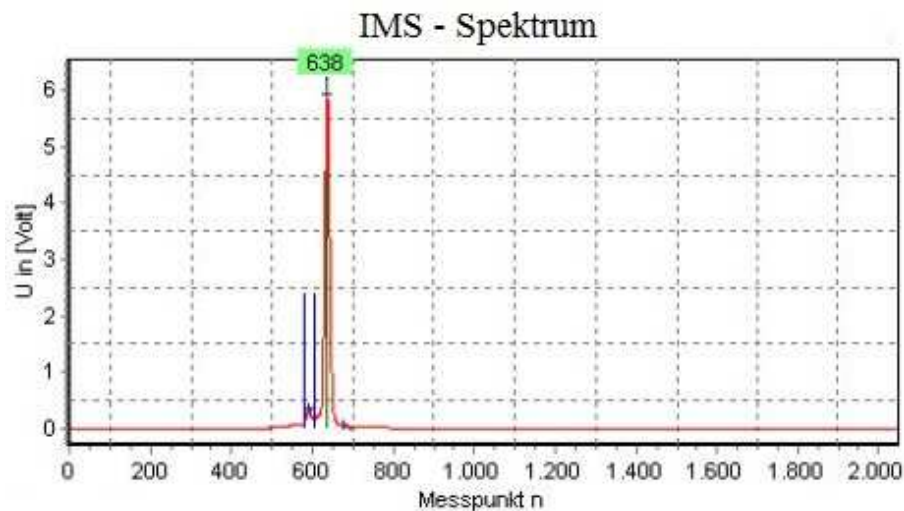


Abbildung 8: Grafische Darstellungsmöglichkeit der IMS-Spektrogramme unter Verwendung der Messpunkte n [STEP2012]

Pro Messsekunde wird ein solches Spektrum in Form einer Text-Datei in einem Zielordner abgespeichert. Alle Spektren einer Messung können mit Hilfe der mitgelieferten Software „IMS Control Basic“ zusammenhängend betrachtet werden. Ein Beispiel dafür ist in Abbildung 9 zu sehen.

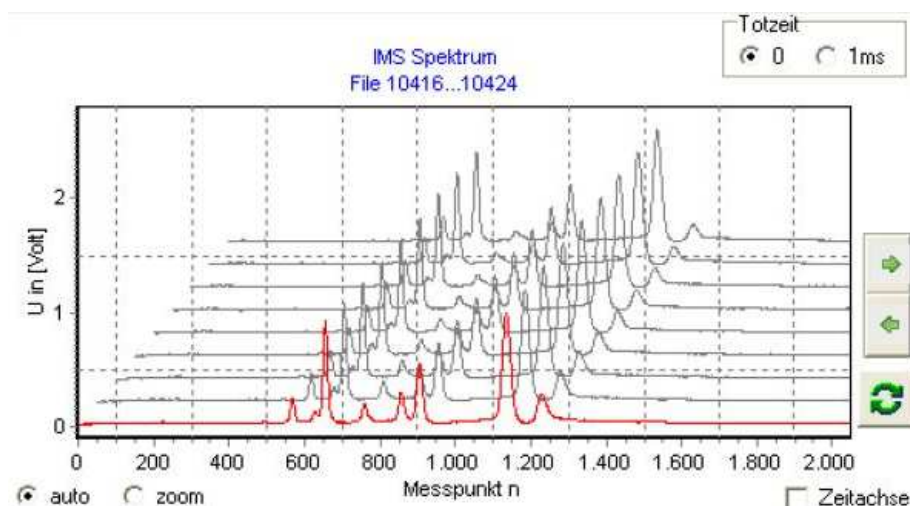


Abbildung 9: Betrachtung aller zeitlich nacheinander aufgenommenen Spektrogramme einer Messung [STEP2012]

Für die Betrachtung der IMS-Spektrogramme hat der Diplom-Informatiker Roman Purkhart eine MATLAB-Anwendung erstellt. Die einzelnen Spektrogramme werden mit Hilfe der Matlab-Anwendung zu einem Heatmap- bzw. Falschfarben-Spektrogramm zusammengefügt, um die Spektrogramme des IMS und der beiden GC-

IMS-Kopplungen miteinander und mit den Spektrogrammen der DMS vergleichen zu können. Die Matlab-Anwendung liefert Ergebnisse wie in Abbildung 10.

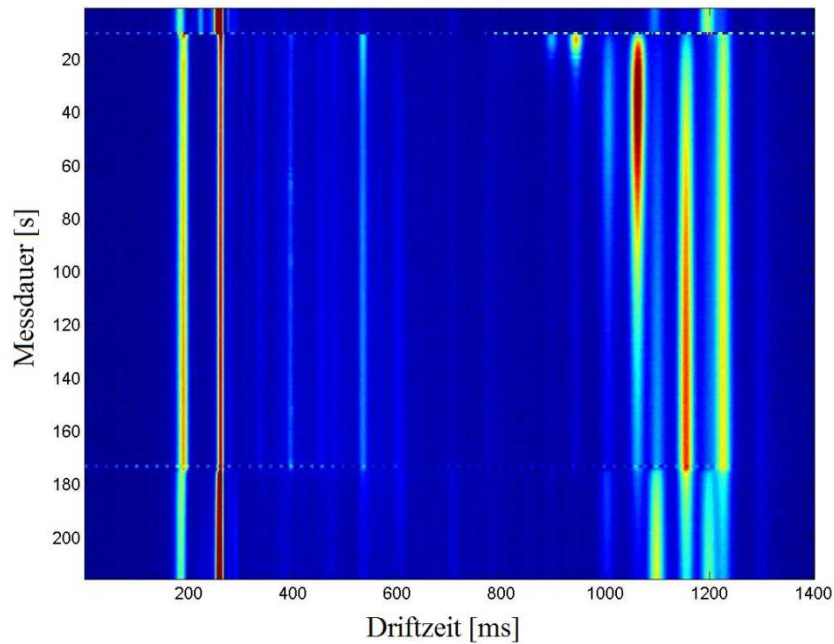


Abbildung 10: Ein Beispiel für die Visualisierung aufgenommenener IMS-Spektrogramme mit Hilfe einer Matlab-Anwendung. x-Achse: Driftzeit in ms. y-Achse: Messdauer in s bei IMS, Retentionszeit in s bei GC-IMS.

Auf diese Weise sind die Spektrogramme des IMS mit denen des DMS visuell vergleichbar. Eine Software zur Auswertung solcher IMS-Spektrogramme durch den Vergleich bestimmter Spektrogrammgruppen untereinander existiert bis jetzt noch nicht.

3.1.3 Geräteeinstellungen für die Versuche

Vor Beginn einer Messung müssen folgende IMS-Parameter eingestellt werden:

- Polarität der Hochspannung (positiv/negativ)
- Temperatur des Detektors
- Temperatur des Einlassventils

Die Hochspannungspolarität der IMS-Messzelle kann positiv oder negativ eingestellt werden. Für die Versuche der vorliegenden wissenschaftlichen Arbeit wurde eine positive Polarität der Hochspannung gewählt. In vorangegangenen Untersuchungen wurde festgestellt, dass die positiven Spektrogramme für die Ausatemluftanalysen usw. eine größere Anzahl an Informationen enthalten, als die negativen Spektrogramme. Der theoretische Temperaturbereich für Detektor und Ventil liegt zwischen 20 und 200 °C. [STEP2012] Dieser sollte der Messaufgabe angepasst werden. Für die Versuche betrug die Temperatur des Detektors und des Ventils 80 °C, da diese Temperaturen voreingestellt sind.

3.1.4 GC-IMS der Firma STEP

Eine Möglichkeit, eine bessere Trennung der Substanzen zu erreichen, ist das Vorschalten einer GC-Säule vor die IMS-Messzelle. Die Firma STEP entwickelte im Rahmen des Projektes der Ausatemluftanalyse ebenfalls eine provisorische GC-IMS-Kopplung und einen GC-IMS-Prototypen.

Erste Messungen wurden mit einem provisorischen Aufbau einer solchen GC-IMS-Kopplung durchgeführt. Diese besteht aus einem beheizbaren Injektor, einer beheizbaren GC-Säule und einem Standalone-IMS. Eine Pumpe transportiert gefilterte Luft durch den Injektor und die GC-Säule hin zu dem IMS. In den auf 80 °C temperierten Injektor wurde die zu untersuchende Probe mit Hilfe einer Spritze eingespritzt. Für Ausatemluftproben wurde ein Atemrohr an dem Einlass der Transportpumpe angebracht. In Abbildung 11 ist der Aufbau dargestellt.



Abbildung 11: Provisorischer Aufbau einer GC-IMS-Kopplung. Beschreibung von links nach rechts: IMS, GC-Säule, Injektor und Pumpe

Die für den provisorischen GC-IMS-Aufbau verwendete GC-Säule ist eine Metallkapillarsäule der Firma Restek aus Bad Homburg, deren Eigenschaften durch Tabelle 1 näher beschrieben werden.

Tabelle 1: Eigenschaften der für den provisorischen GC-IMS-Aufbau verwendete Metall-Kapillartrennsäule [Res2013]

| | |
|-------------------------------------|--|
| Bezeichnung | MXT-5 |
| Länge der Kapillarsäule | 15 m |
| Durchmesser der Kapillarsäule | 0,28 mm |
| Art der stationären flüssigen Phase | 5 % Diphenyl 95 % Dimethylpolysiloxan |
| Dicke der stationären Phase | 0,25 μm |
| Temperaturbeständigkeit | -60 °C – 430 °C |
| Polarität der Phase | Geringe Polarität |

Da bestimmte Substanzen eine ähnliche oder gleiche Retentionszeit besitzen, werden diese mit Hilfe der GC-Säule vorgetrennt. Die Analyse der Substanzen entspricht den in 3.1 beschriebenen Vorgängen. Pro Retentionszeiteinheit wird ein Spektrogramm aufgezeichnet. Ein Beispiel dafür ist in Abbildung 12 zu sehen.

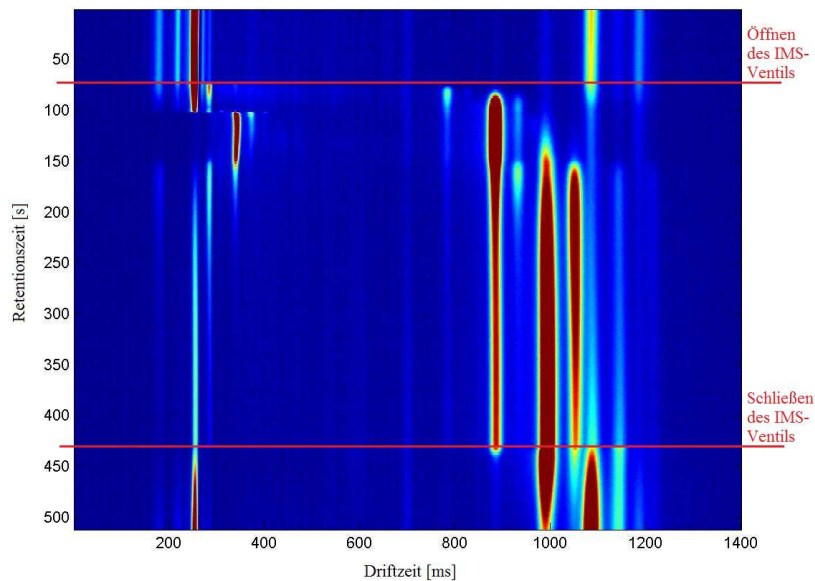


Abbildung 12: Heatmap- bzw. Falschfarben-Darstellung der mit der GC-IMS-Kopplung aufgenommenen Spektrogramme.

Bei dem Prototypen handelt es sich um ein Standalone-IMS, wie es in ähnlicher Form Abbildung 4 zu sehen ist. Der darin befindlichen IMS-Messzelle wird eine kurze und isotherm beheizte Multikapillarsäule vorgeschalten.

Die Probe wird in eine nicht beheizte Probeschleife gepumpt. Die Probeschleife besteht aus einem in Form einer Schleife aufgewickelten, wenig gasendem Schlauch. Nach Öffnen eines Ventils wird die Probe in die GC-Säule und anschließend vorgetrennt in die IMS-Messzelle transportiert. Die GC-Säule ist nur isotherm beheizbar. Für die Versuche wurden verschiedene Temperatureinstellungen gewählt. Die Temperatur des Detektors beträgt, wie bei dem einfachen IMS, 80 °C. Der schematische Aufbau des GC-IMS ist in Abbildung 13 zu sehen.

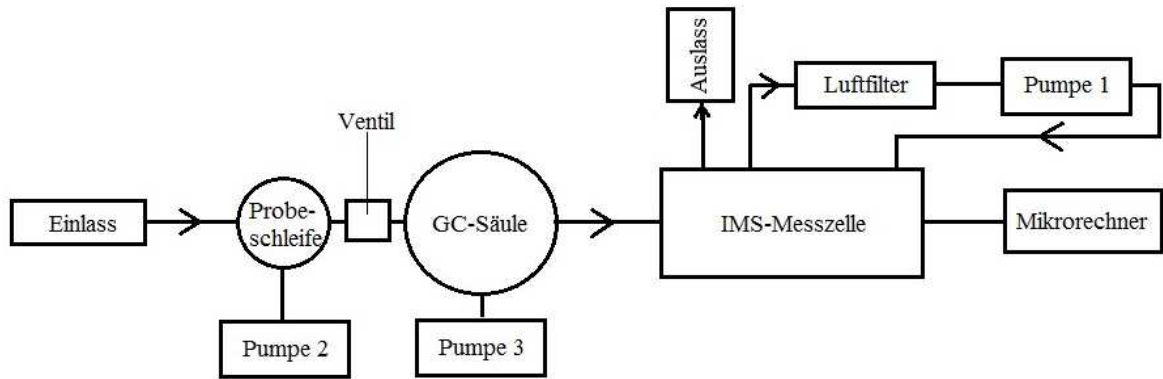


Abbildung 13: Schematischer Aufbau des GC-IMS-Prototypen der Firma STEP

Über den Einlass wird die Probe mit Hilfe der Pumpe 2 in die Probeschleife gepumpt. Anschließend wird das dargestellte Ventil vom Benutzer geöffnet. Die Probeschleife wird daraufhin geleert, die Probe gelangt in die isotherm beheizte GC-Säule. Pumpe 3 treibt das Trägergas und die Probe durch die GC-Säule. Die Substanzen werden nach ihrer Retentionszeit getrennt, der IMS-Messzelle überführt und dort analysiert. Pumpe 1 erzeugt den Driftgasstrom in der IMS-Messzelle. Über den Auslass verlassen das Driftgas und die noch im Reaktionsraum vorhandenen Substanzen die IMS-Messzelle. Der erste Prototyp der Firma STEP ist in Abbildung 14 zu sehen.



Abbildung 14: Prototyp des GC-IMS der Firma STEP

Die in dem GC-IMS-Prototypen verbaute GC-Säule ist eine gerade und kurze Multikapillarsäule der Firma Multichrom Ltd. aus Novosibirsk, Russland. Die Charakteristika der Multikapillartrennsäule werden in

Tabelle 2 aufgelistet.

Tabelle 2: Eigenschaften der in dem GC-IMS-Prototypen verwendeten Multikapillarsäule [MCC2013]

| | |
|-------------------------------------|---------------------------|
| Bezeichnung | S2-40/OV-1/0.2 |
| Länge der Multikapillarsäule | 0,2 m |
| Durchmesser der Multikapillarsäule | 2 mm |
| Durchmesser der Kapillaren | 40 μm |
| Art der stationären flüssigen Phase | 100 % Polydimethylsiloxan |
| Dicke der stationären Phase | 0,2 μm |
| Temperaturbeständigkeit | Bis 210 °C |
| Polarität der Phase | unpolar |

Die in Tabelle 1 und Tabelle 2 beschriebenen GC-Säulen wurden in den GC-IMS-Kopplungen verbaut, da diese beiden GC-Säulen zur Verfügung standen. Die GC-IMS-Daten des Prototyps können jedoch transformiert werden, sodass sie die Form der DMS-Spektrogramme besitzen. Dadurch ist eine Auswertung der IMS-Spektrogramme mit der bereits vorhandenen Klassifizierungssoftware für die DMS-Spektrogramme möglich. Diese Datentransformation kann zurzeit nur mit den Spektrogrammen des GC-IMS-Prototyps erfolgen. Aufgrund der Datentransformation wird die Driftzeit in den durch die Auswertesoftware erzeugten Excel-Tabellen durch Kompensationsspannungswerte ersetzt.

3.2 DMS der Firma Sionex (microAnalyzer™)

In dem differentiellen Ionenmobilitätsspektrometer microAnalyzer™ der Firma Sionex (Bedford, USA) wird ein Differenzialmassenspektrometer mit einer kapillaren GC-Säule kombiniert. Bevor die Substanzen der Probe durch die GC-Säule vorgetrennt werden, wird die Probe mit Hilfe eines erhitzbaren Auskonzentrationsabscheiders aus Aktivkohle angereichert. Der Detektion der Substanzen liegt die von Sionex entwickelte microDMx-Technologie zu Grunde.

Kombinierte bzw. gekoppelte Differenzialmassenspektrometer bieten die Möglichkeit, volatile Metaboliten (VOCs) der Ausatemluft mit Konzentrationen im ppb-Bereich innerhalb von nur fünf Minuten zu identifizieren und zu quantifizieren. [KiBe2009] In Abbildung 15 ist der microAnalyzer™ dargestellt.



Abbildung 15: DMS der Firma Sionex

Mit dem microAnalyzer™ liefert Sionex die Software „Expert“ aus. Sie wurde speziell für die Anwendung des microAnalyzers™ entwickelt und dient hauptsächlich der Aufnahme der differentiellen Ionenmobilitätsspektrogramme. Der Nutzer kann mit Hilfe dieser Software Einstellungen für die Messungen mit dem microAnalyzers™ kreieren und bearbeiten. Daten, die der microAnalyzer™ an das Programm übermittelt,

werden von Expert als Excel-Dateien abgespeichert. Mehr Informationen zur Software „Expert“ und dem microAnalyzer™ können in Quelle [Sion2005] nachgelesen werden.

Die Substanzen der Stoffzusammensetzungen werden auch hier mit Hilfe der GC-Säule getrennt, sodass eine Vortrennung von 250 bekannten Substanzen möglich ist. [Sion2005] Bei der GC-Säule handelt es sich um eine Kapillartrennsäule der Firma Agilent Technologies, Inc. aus Santa Clara, CA (USA), die speziell für Sionex gefertigt wurde. [Sion2008] Sie besitzt die in Tabelle 3 beschriebenen Eigenschaften.

Tabelle 3: Charakteristika der im microAnalyzer™ verbauten GC-Säule [Agil2013]

| | |
|-------------------------------|--|
| Bezeichnung | DB-XLB |
| Länge der Kapillarsäule | 10 m |
| Durchmesser der Kapillarsäule | 0,25 mm |
| Art der stationären Phase | proprietär ¹² |
| Dicke der stationären Phase | 0,25 µm |
| Temperaturbeständigkeit | von 30 °C bis 340 °C (isotherm) und 360 °C (Temperaturkurve) |
| Polarität der Phase | unpolar |

Die verwendete Spezialphase DB-XLB („EXceptionally Low Bleed“) ist auf geringstmögliches Säulenbluten getrimmt und kann keiner bisher bekannten Phase zugeordnet werden. [LabPr2013]

Der microAnalyzer™ findet hauptsächlich in der Sicherheitstechnik Anwendung. Mit ihm werden Sprengstoffe, Kampfstoffe und Giftstoffe in der Umgebung gemessen und bestimmt. [Sion2005] Seit einigen Jahren besteht auch großes Interesse, Ausatemluft mit der Hilfe des microAnalyzers™ zu analysieren. Ein wesentlicher Vorteil des microAnalyzers™ im Vergleich zu anderen Ionenmobilitätsspektrometern besteht in der microDMx™-Technologie. Sie ermöglicht eine höhere Sensibilität sowie Genauigkeit der Spektrometrie und trägt zur Senkung der Produktionskosten und der kompakten Größe des Spektrometers bei. [Hill2010]

¹² hauseigene Entwicklung, die nicht frei zugänglich ist

In folgenden Abschnitten werden der Aufbau und die Abläufe des verwendeten Gerätes, die Struktur der Daten und mögliche Anwendungen dargelegt.

3.2.1 Aufbau und Messablauf

Die Funktionsweise des microAnalyzers™ unterteilt sich in drei Schritte: das Ansaugen der Probe bzw. die Probennahme, das Beladen der GC-Säule und die eigentliche Analyse mit vorheriger Ionisation der Probe. Basis dafür sind drei verschiedene Luftkreisläufe.

Die Abläufe der Probennahme werden in Abbildung 16 schematisch dargestellt. Bei der Probennahme wird das Probengas durch die Einlassöffnung, ein Rückschlagventil und eine Sample Preconcentration Trap (SPT), den sogenannten Auskonzentrierungsabscheider aus Aktivkohle, gepumpt. Mit Hilfe der Proben-Pumpe wird ein Fluss von 50-100 ccm/min erreicht. Die sich in der Probe befindlichen Substanzen lagern sich an der SPT an und werden dort angereichert. Durch die SPT wird die Konzentration der VOCs in der Probe erhöht. Die Funktionalität der SPT beruht auf dem Prinzip der Adsorption. Der Rest des Gasgemisches verlässt den microAnalyzer™ auf direktem Weg über die Auslassöffnung. [Sion2005]

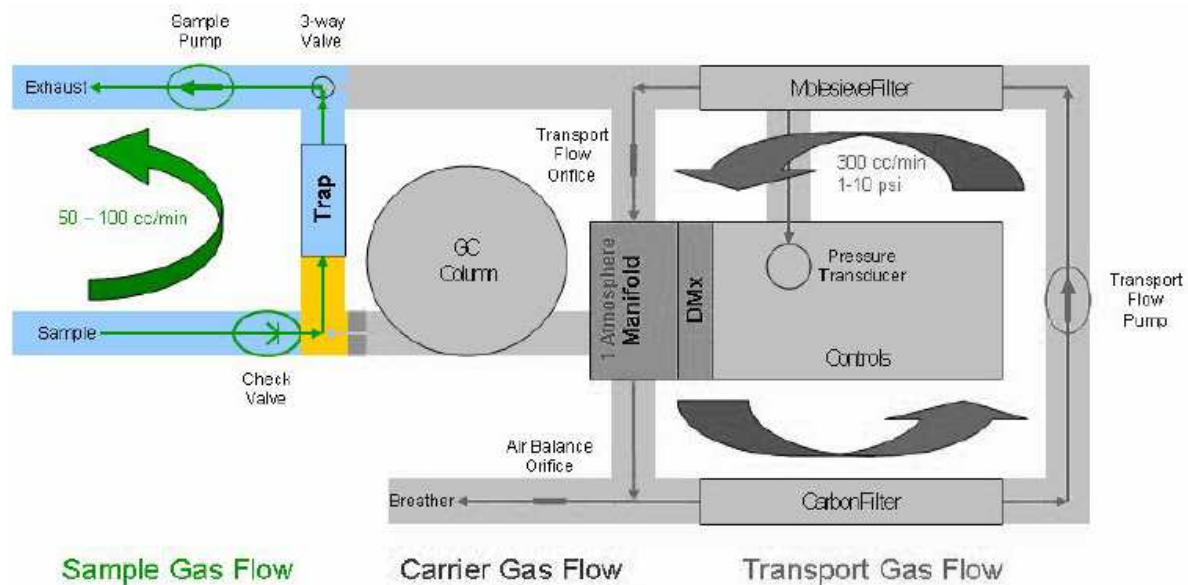


Abbildung 16: Schema zum Ablauf der Probennahme des microAnalyzers™ [Sion2005]

Für das Beladen der GC-Säule wird ein Drei-Wege-Ventil umgeschaltet, damit das Transportgas bzw. Driftgas durch die SPT hin zu der GC-Säule strömen kann. [Sion2005] Währenddessen wird die SPT auf eine gewünschte Temperatur erhitzt. Dadurch wird eine Desorption der interessierenden Substanzen möglich. Das Anreichern und Erhitzen der SPT sind entscheidende Schritte, um die sehr geringen

Nachweisgrenzen von ppb bis ppt zu erreichen. Die Substanzen verlassen die SPT und gelangen in die GC-Säule. Die GC-Säule wird mit den Substanzen beladen. Der Fluss des hier entstandenen Trägergases beträgt 1-5 ccm/min. Während des Beladens der GC-Säule durchläuft deren Temperatur keinen Temperatur-Modus. Die Temperatur der Säule beträgt 40 °C. [Sion2005] Diese Vorgänge werden in Abbildung 17 schematisch dargestellt.

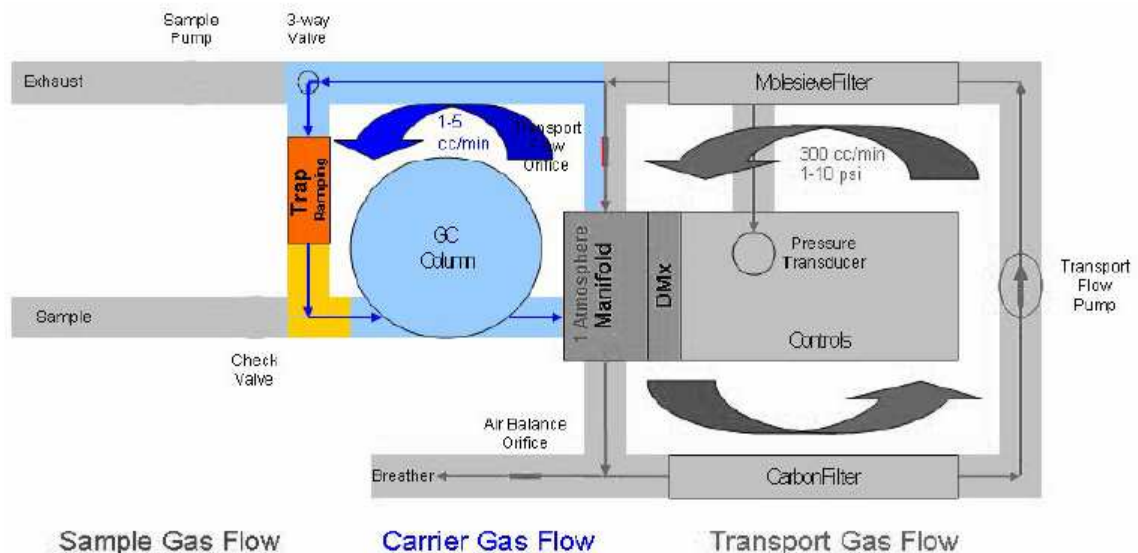


Abbildung 17: Schema der Beladung der GC-Säule des microAnalyzers™ [Sion2005]

Die eigentliche Analyse wird durch das Erhitzen der GC-Säule eingeleitet. Die GC-Säule wird in diesem Schritt stufenweise (je nach Temperaturprogramm für die GC-Säule) erhitzt. Mit der Erhöhung der Säulentemperatur verringert sich die Driftzeit einiger Moleküle, sodass diese früher die GC-Säule verlassen. Entsprechend der individuellen Retentionszeiten verlassen die einzelnen Moleküle die GC-Säule in Richtung des microDMx-Sensors. Durch die GC-Säule wird das gasförmige Stoffgemisch in Einzelsubstanzen vorgetrennt. Währenddessen wird die SPT (oder kurz Trap) wieder für die Folgemessung gekühlt. [Sion2005] Dargestellt wird dieser Arbeitsschritt in Abbildung 18.

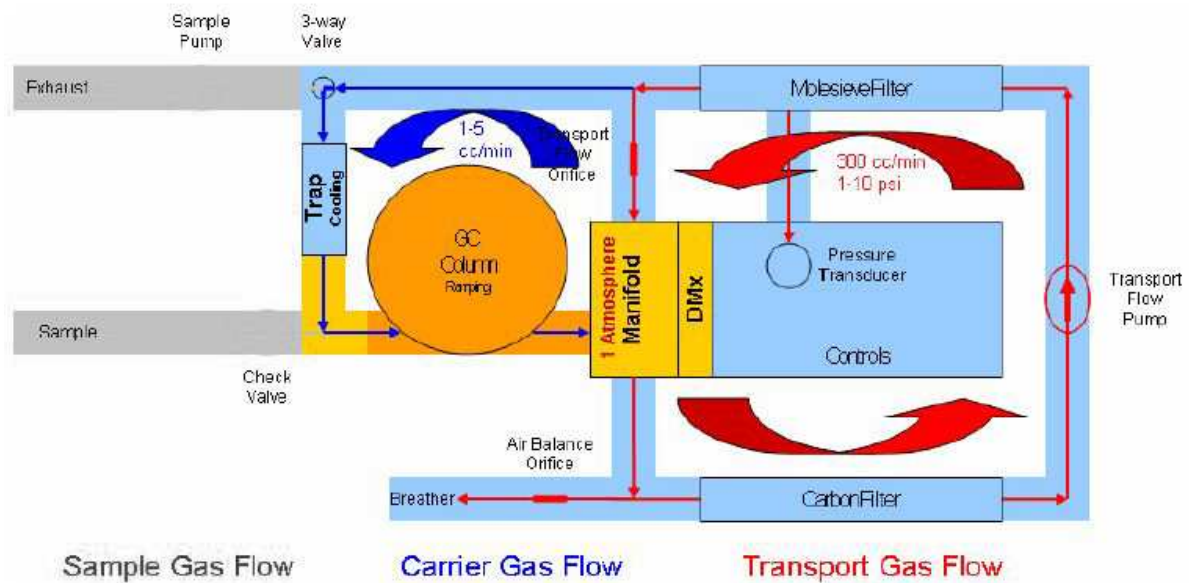


Abbildung 18: Schema zur Analyse der Gasprobe des microAnalyzer™ [Sion2005]

Die vorgetrennten Substanzen werden dem microDMx-Sensor überführt. Seine Funktionsweise entspricht den unter 2.4.1.3 beschriebenen Vorgängen. In dem microAnalyzer™ werden die aus der GC-Säulen kommenden Substanzen mit Hilfe einer ^{63}Ni -Quelle ionisiert. Die zu untersuchenden Ionen durchqueren das Filtergebiet und werden mit Hilfe von Elektrometern (je eins für positive und negative Ionen) detektiert. Simultan werden ein positives und negatives Spektrogramm aufgezeichnet. In Abbildung 19 werden die Vorgänge schematisch dargestellt. Die Abbildung ähnelt der in 2.4.1.3 verwendeten Abbildung 2 zur Erklärung des Funktionsprinzips eines DMS.

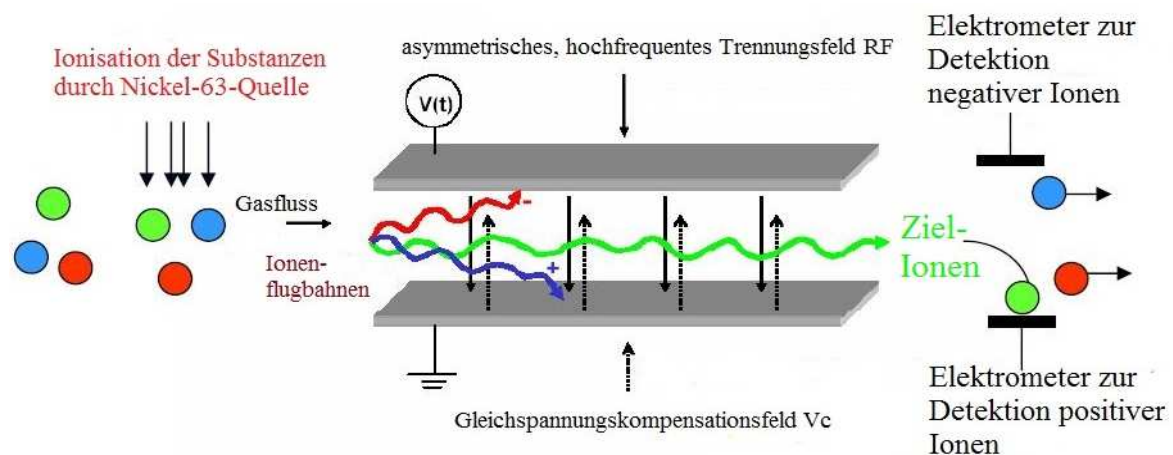


Abbildung 19: Schema der Detektion durch den microDMx-Sensor [Sion2005]

Während der drei Schritte wird mittels der Transportgaspumpe permanent Luft durch einen Kohlenstofffilter, einen molekularen Siebfilter, den Reaktionsraum, in dem das Trägergas ionisiert wird, sowie den microDMx-Sensor gepumpt. Der Fluss ist konstant und beträgt $300 \text{ cm}^3/\text{min}$ bei einem Druck von 1-10 PSI. Das Umwälzungssystem nutzt dafür Raumluft, die durch die zwei Filter aufbereitet wird. Anders als bei anderen ähnlichen Analysenverfahren wird diese in einem Kreislauf gepumpte und aufbereitete Luft als Trägergas für das GC-Modul und als Transportgas der Ionen in dem DMx-Sensor verwendet. Über ein Luftausgleichventil und den Entlüfter verlässt ein Teil der Luft, vom Reaktionsraum kommend, den microAnalyzer™.

3.2.2 Struktur der Messdaten

Eine DMS-Spektrogramm besteht aus einer Serie einzelner Spektren, wobei pro Sekunde ein Spektrum erzeugt wird. Die Spektren aller Retentionszeiten können für die beiden Elektrometer in einer Matrix zusammengefasst werden und bilden das eigentliche differenzielle Ionenmobilitätsspektrogramm.

Für eine schnelle visuelle Erfassung ist eine Darstellung der Matrizen als Heatmap sinnvoll. Die gemessenen Intensitäten (in V) werden dafür mit Hilfe eines Farbschemas codiert. Peaks in den Intensitäten, die jeweils für bestimmte Substanzen spezifisch sind, werden in der Heatmap als ovale Punkte sichtbar. [Hill2010]

In allen Spektren tritt ein Peak bei ca. -14 V auf. Dieser Peak wird Reactant Ion Peak (RIP) genannt. Abhängig davon welcher microAnalyzer™ für die Messungen verwendet wurde, ist der RIP in Richtung der Kompensationsspannung V_c verschoben. In der Heatmap stellt sich dieser als Balken dar. In der Abbildung 20 ist eine Heatmap der Ausatemluftbestandteile abgebildet. In Quelle [Purk2010] wird die Struktur der Daten ausführlich erläutert.

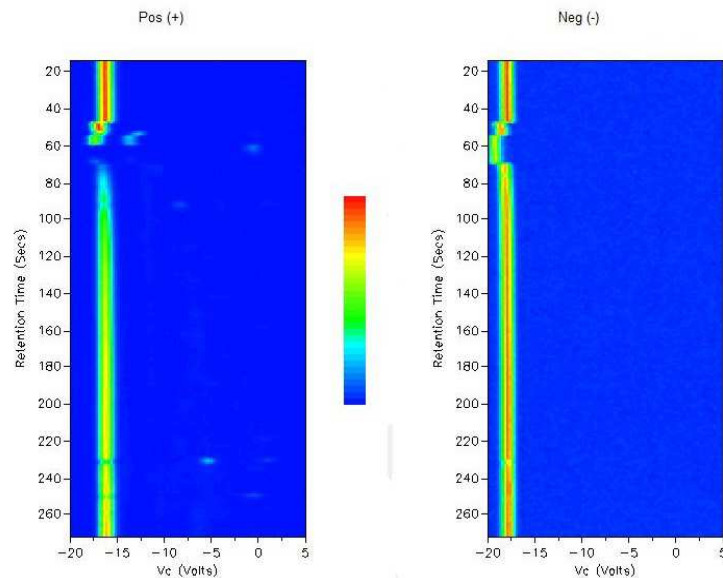


Abbildung 20: Heatmap der positiven (links) und negativen (rechts) Bestandteile der Ausatemluft eines Probanden. In der Heatmap ist der Reactant Ion Peak (RIP) zu erkennen.

Mit der Software „Expert“ der Firma Sionex ist es nicht möglich, die Spektrogramme über den gesamten Retentionszeit-Bereich abzubilden. Zur Präsentation der Ergebnisse werden die DMS-Spektrogramme durch eine Matlab-Anwendung dargestellt. Die Angabe der Kompensationsspannung in den Abbildungen erfolgt deshalb in Prozent und nicht in der Einheit Volt. Dieser Sachverhalt spiegelt sich in Abbildung 21 wider.

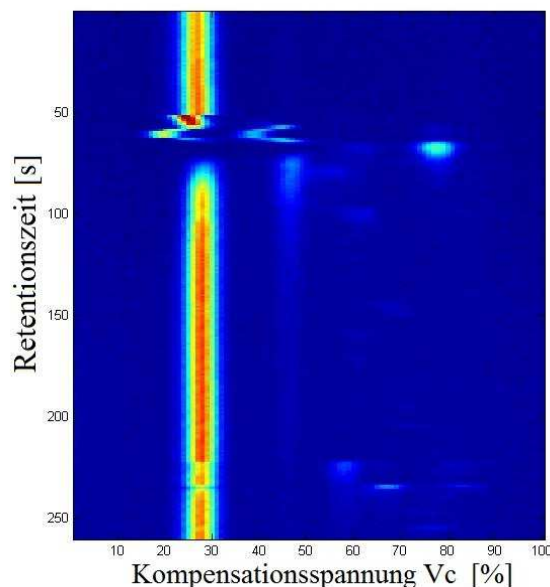


Abbildung 21: Beispiel für die Darstellung der Spektrogramme durch eine Matlab-Anwendung. In diesem Fall wird das Spektrogramm der Ausatemluft eines Probanden dargestellt. Auf der y-Achse wird die Retentionszeit (RT) aufgetragen, auf der x-Achse die Kompensationsspannung V_C in %.

Der vom Benutzer gewählte Bereich der Kompensationsspannung in Volt wird indirekt angegeben. Die Kompensationsspannung erstreckt sich über einen Bereich von -20 V bis +5 V. Bei Angabe der Kompensationsspannung von 0 -100 % kann dieser Bereich übertragen werden.

Für jede einzelne gespeicherte Messung bzw. jedes gespeicherte Spektrogramm werden drei XLS-Dateien mit Hilfe der Software „Expert“ der Firma Sionex generiert. Diese Dateien werden automatisch mit der gleichen Bezeichnung versehen und unterscheiden sich nur anhand ihrer Endung voneinander. Ein Beispiel für Messdaten wird in Abbildung 22 dargestellt.

| VC | -20.00 | -19.75 | -19.49 | -19.24 | -18.99 | -18.74 | -18.48 |
|------------|------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Time Stamp | Negative Channel | | | | | | |
| 0000.000 | | 0.5075 | 0.5099 | 0.5097 | 0.5074 | 0.5105 | 0.5086 |
| 0001.011 | | 0.5073 | 0.5097 | 0.5072 | 0.5094 | 0.5098 | 0.5085 |
| 0002.023 | | 0.5089 | 0.5098 | 0.5094 | 0.5086 | 0.5097 | 0.5078 |
| 0003.034 | | 0.5080 | 0.5094 | 0.5097 | 0.5097 | 0.5095 | 0.5106 |
| 0004.045 | | 0.5096 | 0.5085 | 0.5095 | 0.5102 | 0.5091 | 0.5079 |
| 0005.057 | | 0.5088 | 0.5103 | 0.5110 | 0.5090 | 0.5081 | 0.5092 |
| 0006.068 | | 0.5057 | 0.5083 | 0.5095 | 0.5084 | 0.5089 | 0.5098 |
| 0007.080 | | 0.5073 | 0.5091 | 0.5104 | 0.5102 | 0.5099 | 0.5080 |
| 0008.091 | | 0.5083 | 0.5087 | 0.5083 | 0.5100 | 0.5094 | 0.5093 |
| 0009.103 | | 0.5086 | 0.5100 | 0.5088 | 0.5081 | 0.5104 | 0.5099 |
| 0010.124 | | 0.5102 | 0.5079 | 0.5095 | 0.5119 | 0.5087 | 0.5082 |
| 0011.136 | | 0.5078 | 0.5087 | 0.5097 | 0.5095 | 0.5094 | 0.5104 |
| 0012.147 | | 0.5099 | 0.5098 | 0.5103 | 0.5079 | 0.5084 | 0.5112 |
| 0013.159 | | 0.5083 | 0.5098 | 0.5090 | 0.5100 | 0.5107 | 0.5092 |
| 0014.170 | | 0.5089 | 0.5100 | 0.5100 | 0.5092 | 0.5101 | 0.5084 |
| 0015.181 | | 0.5112 | 0.5088 | 0.5082 | 0.5088 | 0.5084 | 0.5088 |
| 0016.193 | | 0.5101 | 0.5069 | 0.5104 | 0.5096 | 0.5083 | 0.5082 |
| 0017.204 | | 0.5096 | 0.5094 | 0.5100 | 0.5099 | 0.5092 | 0.5088 |
| 0018.216 | | 0.5090 | 0.5086 | 0.5108 | 0.5080 | 0.5089 | 0.5095 |
| 0019.227 | | 0.5074 | 0.5106 | 0.5110 | 0.5096 | 0.5090 | 0.5106 |
| 0020.239 | | 0.5082 | 0.5105 | 0.5090 | 0.5088 | 0.5080 | 0.5096 |

Abbildung 22: Auszug einer abgespeicherten Datei eines positiven Spektrogramms

Die abgespeicherten Dateien können anschließend in Microsoft Excel überführt und zur weiteren Auswertung verwendet werden.

3.2.3 Geräteeinstellungen für die Versuche

Die Einstellung bzw. Methode für die Messungen mit dem DMS „microAnalyzer™“ wurden wie in Tabelle 4 gewählt:

Tabelle 4: Einstellung (Methode) des DMS für die Versuche

| Probennahme (Sampling) | | Kompensationsspannung V_c | | Spannung des RF-Feldes V_{RF} | |
|------------------------|-------|-----------------------------|------------|---------------------------------|--------|
| Number of Steps | 100 | Start V_c | -20 V | RF Voltage | 1000 V |
| Step Duration | 10 ms | End V_c | +5 V | RF Step Size | 1 V |
| Steps to Blank | 1 | V_c Step | 0,252525 V | RF Steps | 0 |

In Tabelle 5 wird das Messprogramm beschrieben, mit dem der microAnalyzer™ betrieben wurde. Die GC-Säule durchläuft dabei eine Temperaturkurve.

Tabelle 5: Messprogramm des DMS

| Ablaufsteuerung | | GC-Säule | | TRAP | |
|-----------------|----------|----------|-----------------|----------|-----------------|
| Ereignis | Zeit [s] | Zeit [s] | Temperatur [°C] | Zeit [s] | Temperatur [°C] |
| Valve On | 0 | 0 | 40 | 0 | 40 |
| Pump On | 0 | 30 | 40 | 1 | 300 |
| Case Fan On | 0 | 100 | 60 | 180 | 300 |
| Pump Off | 20 | 180 | 80 | | |
| Valve Off | 20 | 210 | 120 | | |
| GC Fan Off | 20 | 240 | 120 | | |
| Column | 20 | | | | |
| TRAP Fan Off | 21 | | | | |
| TRAP | 21 | | | | |
| TRAP Fan On | 270 | | | | |
| GC Fan On | 270 | | | | |
| End | 270 | | | | |

Für einige Versuche wurde die GC-Säule isotherm und mit unterschiedlichen Temperaturen beheizt. Entsprechende Erläuterungen dazu können in Kapitel 3.4 nachgelesen werden.

3.3 Auswertesoftware zur Klassifizierung der aufgenommenen Spektrogramme

Folgend wird die Klassifizierungssoftware zur Auswertung der aufgenommenen Spektrogramme beschrieben. Die grundlegende Software entwickelte der Diplominformatiker Roman Purkhart im Rahmen seiner Diplomarbeit an der Humboldt-Universität Berlin. Sie dient der objektiven Klassifizierung von typischen Merkmalen (Clustern) der aufgenommenen DMS-Spektrogramme und dem Vergleich von Gruppen bzw. Stichproben aus unterschiedlichen Grundgesamtheiten. [PuHi2012] Für die Auswertung mit der Software zur Klassifizierung der Proben werden die Spektrogramme nach bestimmten Merkmalen sortiert. [BeHi2010]

3.3.1 Auswertestrategie

Die Auswertung der Daten erfordert eine neuartige Herangehensweise, da davon ausgegangen wird, dass die überwiegende Mehrzahl der detektierten Peaks nicht zu identifizieren ist. Desweiteren muss davon ausgegangen werden, dass grundsätzlich Überlagerungen der gesuchten Peaks der Probe mit Peaks aus der Umgebungsluft auftreten. Die Zuordnung einer Probensubstanz zu einem Referenzpeak ist damit nicht zu erwarten.

In der grafischen Darstellung der Messungen als Heatmap ist dieser Sachverhalt visuell bereits sichtbar, was ebenfalls eine grafische bzw. objektive Auswertung der Spektren einschließt. Eine rein visuelle Auswertung ist nicht zielführend, da sich Unterschiede sowohl in Darstellungen durch Monitore als auch in Ausdrucken zeigen. Die rein grafische Auswertung der Spektrogramme ist abhängig von der Qualität der grafischen Darstellung und der visuellen Differenzierung durch den Auswertenden. Vor allem bei einer großen Vielzahl an aufgenommenen Spektrogrammen ist diese Art der Auswertung fehlerhaft und zeitaufwendig. Eine visuelle Auswertung kann also nur verwendet werden, um grobe Tendenzen oder fehlerhafte Aufnahmen und Abspeicherungen der Spektren zu erkennen. Eventuell ist damit auch das Auffinden markanter „Leitsubstanzen“, wie beispielsweise Ethanol, Azeton o. ä. möglich.

Zur korrekten Auswertung ist ein Auswerteprinzip notwendig, das, unabhängig von allen subjektiven Einflüssen, in der Lage ist, Unterschiede in der Sensitivität der Messgeräte und des Rauschverhaltens etc. zu nivellieren und eine große Anzahl von Spektren miteinander zu vergleichen. Die verfügbare Auswertesoftware beruht prinzipiell auf der Annahme, dass diskrete Peaks erkannt werden, die mit einer entsprechenden Referenzsubstanz mit einem gleichartigen, in der Messung erzeugten Peak identifiziert und quantifiziert werden können. Das Ziel der Klassifizierung von einem Schwarm unbekannter, aber in vielen Messungen wiederkehrender Peaks ist nur mit einer eigenen Softwareentwicklung zu erreichen.

Die Software zur Klassifizierung der Spektrogramme stellt eine erleichterte, verbesserte und genauere Auswertemethode dar. Grundgedanke ist, eine Gruppe von Spektrogrammen eines bestimmten Merkmals mit einer Gruppe anderer Spektrogramme ohne dieses Merkmal zu vergleichen. Auf diese Weise können merkmalspezifische Substanzmarker (Cluster) ermittelt werden. Für die Auswertung von Spektrogrammen sind jedoch umfangreiche Studien notwendig, um eine sichere Datenbasis zu erhalten. „Nur in großen Lernstichproben können diskriminierende Marker sicher von Störfaktoren aus der Umgebungsluft oder zufälligen Beobachtungen sicher getrennt werden.“ [Bech2013] S. 106

Die Software basiert auf der Klassifizierung bzw. Klassifikation der gemessenen Substanzen (Marker) in der Messluft. Der Begriff „Klassifikation“ beschreibt einen elementaren Vorgang, auf dem zahllose komplexere Prozesse aufbauen. „Jeder Organismus klassifiziert Informationen in wichtige und unwichtige.“ [Hill2010] S. 46 Maschinelle Klassifizierungen finden in verschiedensten technischen Bereichen Anwendung. Der Prozess der Klassifizierung bzw. die Entwicklung eines Klassifikators wird in drei Schritte unterteilt: die Klassenvorgabe, die Auswahl geeigneter Merkmale und das Ziehen von Klassengrenzen.

Für den ersten Schritt werden zwei Gruppen bzw. Klassen nach einem bestimmten Kriterium vorgegeben. Diese können beispielsweise eine Gruppe von Probanden des gleichen charakteristischen Merkmals und je eine Gruppe ohne dieses Merkmal sein.

Anschließend werden die einzelnen Spektrogramme vorverarbeitet, die geeigneten Merkmale extrahiert und später reduziert. [Purk2010]

Für das Ziehen der Klassengrenzen kommen Klassifikationsverfahren zur Anwendung, die letztlich zu einer geeigneten Klassifikation führen. An dieser Stelle wird auf die Diplomarbeit von Roman Purkhart (Quelle [Purk2010]) verwiesen, die sich ausführlich mit dieser Problematik beschäftigt.

3.3.2 Beschreibung der Auswertesoftware

Mittlerweile sind viele weiterentwickelte Testversionen der Auswertesoftware entstanden. Mit der aktuellen Version der Klassifizierungssoftware können sowohl positive als auch negative Spektrogramme ausgewertet werden. Für die vorliegende wissenschaftliche Arbeit sind lediglich die positiven Spektrogramme von Interesse. Mithilfe dieses Programms können die Peaks in den Spektren erkannt werden. Der Benutzer kann verschiedene Parameter festlegen. Der entscheidendste Parameter ist die minimale Intensität I . Mit der Wahl der minimalen Intensität I wird bestimmt, welche detektierte Intensität als ein Peak definiert wird. Alle Intensitäten, die unter dem gewählten Wert liegen, werden dem Grundrauschen zugeordnet und werden nicht in die Peakanalyse einbezogen. Alle Intensitäten, die größer gleich diesem Wert sind, werden als Peak definiert. Die minimale Intensität beträgt bei allen Auswertungen bezüglich der DMS-Spektrogramme 0,007 V, da sich dieser Wert in vorangegangenen Versuchen als geeignet herausstellte. [Hill2012, Hillm2012]

Das Programm und seine Anwendung werden genauer in Quelle [Hill2012] Seite 9 bis 11 erläutert. Die Ergebnisse, die das Programm liefert, sehen wie in Abbildung 23 aus:

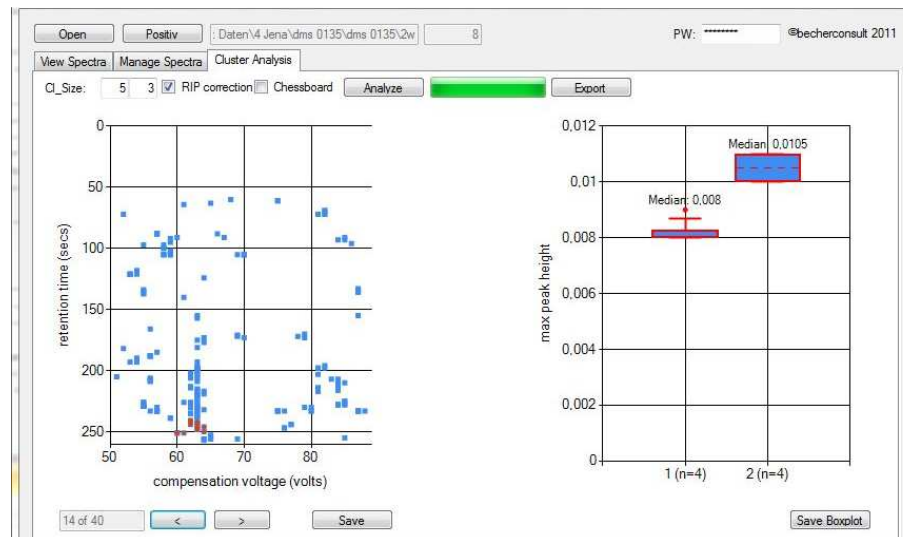


Abbildung 23: Ergebnis einer beliebigen Clusteranalyse. Links: Ermittelte Peaks mit dem rot markierten, näher analysierten Peak. Rechts: Analyse des rot markierten Peaks mit Hilfe eines Boxplots.

Die Peaks der Spektrogramme werden sogenannten Clustern zugeordnet, da in den einzelnen Spektrogrammen leichte Verschiebungen der Peaks in Richtung der Retentionszeit sowie der Kompensationsspannung auftreten. Die Parameter der Cluster-Größe (x- und y-Wert der beiden Achsen) können vom Nutzer der Software beliebig gewählt werden. Außerdem können die Peaks mittels RIP Correction noch am RIP ausgerichtet werden. Diese Funktion ist notwendig, da Versuche ergeben haben, dass der RIP bei verschiedenen microAnalyzern™ Unterschiede bezüglich seiner Lage im Spektrogramm aufweist. Mit Hilfe der Checkbox „Chessboard“ (siehe Abbildung 23) können die Peaks desweiteren auf eine andere Methode („Schachbrettmethode“) zu Clustern zusammengefasst werden. Diese Art der Analyse geht zwar schneller, aber die Cluster bleiben immer gleich. Dadurch wird die Analyse für Lageänderungen einiger Peaks weniger flexibel. Sie wird für die Auswertungen der vorliegenden Arbeit nicht verwendet. Die Clusteranalyse liefert eine Abbildung der Peaks in den Spektren und dazugehörige Boxplots. In Abbildung 23 wird dies dargestellt. Die Peaks, die in der linken Abbildung gelb markiert sind, werden durch die Boxplots näher analysiert. Das Ergebnis der Analyse kann zusätzlich als Excel-Tabelle für weitere Auswertungen gespeichert werden. In dieser Excel-Tabelle sind Lage und Höhe jedes einzelnen Peaks aufgelistet. [Hillm2012]

Die im Boxplot der Abbildung 23 erkennbaren Beschriftungen erklären sich wie folgt:

| | |
|-----------------|--|
| 1 (n=4) | 4 Spektrogramme der Gruppe 1 (in diesem Fall: Headspace des mit Bakterien beimpften Nährbodens nach 2 Wochen) für Analyse verwendet |
| 2 (n=4) | 4 Spektrogramme der Gruppe 2 (in diesem Fall: Headspace des mit Bakterien beimpften Nährbodens nach 4 Wochen) für Analyse verwendet |
| max peak height | Maximale Peakhöhe des betrachteten Peaks in beiden Gruppen |
| Quartilsabstand | 50 % der gemessenen Intensitäten liegen im Quartilsabstand; 25 % jeweils darüber und darunter; obere Kante: 75 %-Quartil; untere Kante: 25 %-Quartil |
| Median | mittlere Wert aus einer in aufsteigender Reihenfolge geordneten Wertereihe; Vorteil des Medians gegenüber dem (arithmetischen) Mittelwert: er ist unempfindlich gegenüber Ausreißern einer Messwertreihe |
| Ausreißer | Extreme Werte |

3.4 Versuchsaufbau und –planung

Im folgenden Kapitel werden die für die vorliegende wissenschaftliche Arbeit durchgeführten Versuche, deren Planung und Durchführung näher erläutert.

3.4.1.1 Untersuchung der Spektrogramme des IMS, des provisorischen Aufbaus einer GC-IMS-Kopplung und des GC-IMS-Prototypen der Firma STEP

Diese Versuchsreihe wurde durchgeführt, um zu zeigen, dass das Vorschalten einer GC-Säule vor ein IMS für die Trennung einzelner Substanzen, speziell für ein so komplexes Stoffgemisch wie die Ausatemluft, von großer Bedeutung ist. Es kann vorkommen, dass Substanzen bei der Analyse mit einem reinen IMS gleiche oder ähnliche Driftzeiten aufweisen. Die Folge dessen ist, dass einige Substanzpeaks von anderen überlagert werden. Eine eindeutige Identifizierung dieser Peaks ist nicht möglich. Mit Hilfe der GC-Säule werden die Substanzen nach ihren Retentionszeiten vorgetrennt und anschließend durch das IMS analysiert. Die Substanzen werden also nicht nur nach ihrer jeweiligen Driftzeit, sondern zusätzlich nach ihrer spezifischen Retentionszeit getrennt. In einem Spektrogramm sollte sich dieser Sachverhalt durch eine erhöhte Anzahl an Peaks und deren eindeutige Abtrennung voneinander darstellen.

Für diesen Versuch wurden Spektrogramme des IMS mit denen des provisorischen Aufbaus einer GC-IMS-Kopplung und des GC-IMS-Prototypen der Firma STEP verglichen. Als Proben dienten in diesen Versuch Raumluft und Ausatemluft eines nüchternen Probanden. Die Raumluft über die Lufteinlässe der Spektrometer angesaugt. Für die Analyse der Ausatemluft atmete der Proband über ein Atemrohr für einen längeren Zeitraum aus. Die Luft wurde in dem Atemrohr gesammelt und den Spektrometern anschließend zugeführt. Die Temperatur des Detektors betrug bei dem IMS, dem provisorischer Aufbau des GC-IMS und dem GC-IMS-Prototyp 80 °C. Als Temperatur für die GC-Säulen der zwei GC-IMS-Kopplungen wurden ebenfalls 80 °C gewählt.

Die Messungen fanden unter gleichen Raumbedingungen statt. Die Ergebnisse des Versuches werden in 4.1 dargestellt und im Kapitel 5.1 diskutiert.

3.4.1.2 Untersuchung verschiedener Proben mit Hilfe der provisorisch aufgebauten GC-IMS-Kopplung und der DMS

Ziel dieser Versuchsreihe war es, einen Vergleich zwischen den Spektrometern GC-IMS-Kopplung und DMS anzustellen. Der provisorische Aufbau der GC-IMS-Kopplung diente in den ersten Versuchen dazu, mögliche Schwachstellen dieses Aufbaus festzustellen und der Firma STEP für die Weiterentwicklung einer GC-IMS-Kombination mitzuteilen. Der Versuchsaufbau der provisorischen GC-IMS-Kopplung ist in Abbildung 11 dargestellt. Der Versuchsaufbau des DMS ist in Abbildung 24 zu sehen. Es wird davon ausgegangen, dass die Spektrogramme des GC-IMS denen des microAnalyzers™ nicht ähneln. Die Spektrometer unterscheiden in ihrem Aufbau und den verwendeten Komponenten (Ionisationsquelle, GC-Säule, Detektor usw.) sowie Messprinzipien. Die Messungen fanden an verschiedenen Messtagen in einem neutralen Raum statt, um zusätzliche chemische Einflüsse, wie sie beispielsweise in Laboren auftreten können, zu verhindern.

Die GC-Säule der GC-IMS-Kombination konnte nur isotherm beheizt werden. Für die Versuche wurden GC-Säulentemperaturen von 80 °C und 100 °C gewählt. Um einen Vergleich zwischen den Spektrogrammen beider Geräte zu ermöglichen, wurde die GC-Säule des microAnalyzers™ ebenfalls isotherm temperiert. Die Temperaturen wurden denen der provisorischen GC-IMS-Kopplung angepasst. Vorangegangene Messungen zeigten, dass die Intensität der Peaks bei der isothermen Beheizung der GC-Säule niedriger ausfällt. Die Probennahme des microAnalyzers™ wurde von 20 s auf 40 s erhöht, um deutlichere Peaks zu erhalten. Das verwendete Messprogramm des microAnalyzers™ stellte sich, wie in Tabelle 5 aufgeführt, dar. Die GC-Säulentemperatur wurde lediglich auf die gewollte Temperatur eingestellt und durchlief keine Temperaturkurve. Zum Vergleich werden in Kapitel 4.2 zusätzlich Spektrogramme des microAnalyzers™ näher betrachtet, dessen GC-Säule eine Temperaturkurve (siehe Tabelle 5) durchlief.



Abbildung 24: Versuchsaufbau für microAnalyzer™

Als Proben für diesen Versuch dienten Raumluft, der Headspace¹³ bzw. die Luft eines Röhrchens, das mit unbehandeltem Nährboden gefüllt war (HEYM-Röhrchen), und die Ausatemluft eines nüchternen Probanden. Für die Raumluftmessungen wurde dem microAnalyzer™ ein Filter (siehe Abbildung 24) vorgeschaltet, da ein solcher ebenfalls dem provisorischen GC-IMS-Aufbau vorgeschaltet war. Dadurch wurden nicht alle Substanzen in der Raumluft detektiert.

Der Nährboden wurde bewusst für diesen Versuch gewählt, da er für die Standardisierung von Spektrometern als geeignet erscheint. Der Nährboden ist reproduzierbar und stellt ein Gemisch aus verschiedenen Komponenten dar, die sich in den Spektrogrammen widerspiegeln. Bei Beimpfung der Nährböden mit Bakterienkulturen, könnten die Zusammensetzung und die Veränderung des Headspace mit Hilfe der Spektrometer überwacht werden, um eine erfolgreiche Bakterienbeimpfung zu bestätigen. Außerdem können Bakterienkulturen und deren Populationsgröße analysiert werden.

Es handelte sich hierbei um einen Nährboden namens „BBL Herrold's Egg Yolk Agar Slant with MJ and ANV¹⁴“. Dieser Nährboden findet vor allem im veterinären Bereich Anwendung. Diese Art Nährboden wird für die selektive Isolation und Differenzierung

¹³ Luft über dem Nährboden innerhalb des Röhrchens

¹⁴ Schräger Eidotter-Nährboden mit Mycobactin J, Amphotericin, Nalidixic Acid und Vancomycin

des *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*, kurz MAP, genutzt. Der Nährboden setzt sich aus den in Tabelle 6 aufgelisteten Substanzen zusammen. [BD2013]

Tabelle 6: Chemische Zusammensetzung der Nährbodenmasse (1000 ml)

| Substanz | Menge |
|---|----------|
| Pankreatisch abgebautes Casein | 9,0 g |
| Rindfleischextrakt | 2,7 g |
| Natriumchlorid (NaCl) bzw. Kochsalz | 4,0 g |
| Natriumpyruvat (Verbindung der Brenztraubensäure) | 4,1 g |
| Malachitgrün | 0,1 g |
| Amphotericin B | 0,05 g |
| Mycobactin J (Eisenbinder) | 0,002 g |
| Agar | 15,3 g |
| Nalidixinsäure (Synthetisches Breitband-Antibiotikum) | 0,05 g |
| Vancomycin (Glykopeptid-Antibiotikum) | 0,05 g |
| Eidotter bzw. Eigelb | 100,0 ml |
| Glycerol | 27,0 ml |
| Destilliertes Wasser | 873,0 ml |

Das mit Nährboden gefüllte Röhrchen wird folgend als HEYM-Röhrchen bezeichnet. Es wurde versucht, das Röhrchen vor allen Messungen auf annähernd 37 °C zu erwärmen, da diese Nährböden in der Praxis nach der Beimpfung mit Mykobakterienkulturen bei dieser Temperatur inkubiert werden. Zusätzlich ermöglicht eine höhere Temperatur eine bessere Vergasung der Substanzen. Die Erwärmung war jedoch nicht exakt möglich, da dafür notwendige Gerätschaften nicht zur Verfügung standen.

Für die Untersuchungen mit dem microAnalyzer™ wurde der Headspace des HEYM-Röhrchens über einen Schlauch abgesaugt, während gefilterte Raumluft in das Röhrchen strömte. Der Einfluss möglicher Substanzen, die sich in der Raumluft befinden, auf die Spektrogramme wurde dadurch verringert. Der verwendete Schlauch

bestand aus einem wenig gasenden Material, um dessen Einfluss zu minimieren. Dargestellt wird der Aufbau des Versuchs in Abbildung 25.

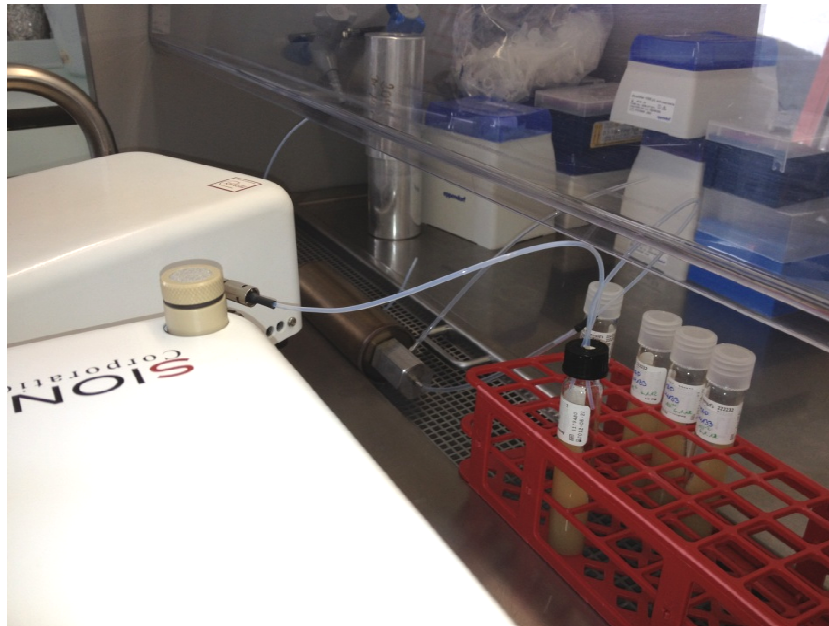


Abbildung 25: Beispiel für die Probennahme eines HEYM-Röhrchen, hier für den microAnalyzer™. Über einen Schlauch wird die Luft aus den HEYM-Röhrchen durch das DMS abgesaugt. Es strömt gefilterte Luft in das Röhrchen nach. Im Hintergrund ist ein Filter der Firma STEP (metallischer Zylinder) zu sehen.

Für die Analyse mit der GC-IMS-Kopplung wurde die Luft bzw. der Headspace über dem Nährboden mit Hilfe einer Spritze manuell abgesaugt und über den Injektor dem Messaufbau zugeführt. Die abgesaugte Luft wurde anschließend durch das Spektrometer analysiert.

Neben Raumluft und dem Headspace des HEYM-Röhrchens diente Ausatemluft eines Probanden als Probengas. Die wurde über ein Atemrohr, wie in Abbildung 26 zu sehen ist, den Spektrometern zugeführt. In dem Atemrohr wurde die Ausatemluft des Probanden gesammelt. Die DMS saugte die Probe selbstständig an. Bei der GC-IMS-Kopplung wurde das Atemrohr mit dem Einlass der Transportpumpe verbunden, so dass die Pumpe die gesammelte Ausatemluft aus dem Atemrohr ansaugte und durch Injektor, GC-Säule und hin zu dem IMS pumpte.



Abbildung 26: Links: Atemrohr für die Zuführung der Ausatemluft zu den Spektrometern.
Rechts: DMS.

Für die Auswertung der DMS-Spektrogramme wurde je ein Spektrogramm pro Gruppe ausgewählt, da meist nur ein GC-IMS-Spektrogramm für die Auswertung vorlag. Die Messung mit der provisorischen GC-IMS-Kopplung ist sehr zeit- und arbeitsintensiv. Daher wurde entschieden, für den Versuch nur eine Messung durchzuführen. Es konnte nur ein Datensatz pro GC-Säulentemperatur ausgewertet werden. Die Lage und die Höhe der Peaks in den GC-IMS-Spektrogrammen wurden manuell bei der Darstellung der Spektrogramme mit Hilfe der Matlab-Anwendung bestimmt. Die DMS-Spektrogramme wurden mittels Klassifizierungssoftware ausgewertet. Die Ergebnisse des Versuches werden in Kapitel 4.2 präsentiert und unter 5.2 diskutiert.

3.4.1.3 Untersuchungen von Proben mit Hilfe der DMS und des GC-IMS der Firma STEP

Diese Versuchsreihe diente dem Vergleich der Spektrogramme des GC-IMS-Prototypen und des microAnalyzers™ (Seriennummer 0194). Das verwendete GC-IMS ist der erste Prototyp der Firma STEP. Beide Geräte besitzen einen ähnlichen Aufbau, sie sind jedoch in ihren Bauelement und deren Eigenschaften unterschiedlich. Dementsprechend wird angenommen, dass sich die Spektrogramme voneinander unterscheiden. Als Proben dienten Raumluft und Ausatemluft eines Probanden. Der Proband hat alle Messungen nüchtern durchgeführt. Beide Geräte saugten die Proben selbstständig an. Die Raumluftprobe wurde über die Einlässe der beiden Spektrometer angesaugt und anschließend analysiert. Die Ausatemluft wurde ebenfalls über ein Atemrohr in die Spektrometer überführt. Die Messungen fanden simultan in einem neutralen Raum statt.

Das DMS wurde mit den in Kapitel 3.2.3 (Tabelle 4 und Tabelle 5) beschriebenen Einstellungen betrieben. Die GC-Säule durchlief die dargelegte Temperaturkurve. Für die Messungen mit Hilfe des GC-IMS-Prototypen wurde eine positive Polarität der IMS-Messzelle verwendet. Der Detektor wurde auf 80°C temperiert. Die GC-Säulentemperatur wurde dabei variiert, um mögliche Veränderungen in den Spektrogrammen beobachten zu können.

Alle für diese Versuchsreihe notwendigen Messungen wurden in ein und demselben geschlossenen Raum an zwei Versuchstagen durchgeführt. Der Raum wurde vor den Messungen gelüftet. Es wurden drei Raumluft-Spektrogramme miteinander verglichen, die an zwei verschiedenen Tagen zu unterschiedlichen Tageszeiten mit Hilfe des DMS erzeugt wurden. Die Spektrogramme wurden als Raumluft 1, Raumluft 2 und Raumluft 3 bezeichnet. Parallel zu den DMS-Messungen wurden Spektrogramme mit dem GC-IMS-Prototypen erzeugt. Diese werden folgend als Raumluft 40 °C, Raumluft 80 °C und Raumluft 100 °C in Abhängigkeit der jeweils verwendeten GC-Säulentemperatur bezeichnet. In Tabelle 7 sind die zeitlichen Parameter der DMS- und GC-IMS-Messungen zusammengefasst.

Tabelle 7: Zusammenfassung entscheidender zeitlicher Parameter der DMS- und GC-IMS-Spektrogramme

| DMS-Spektrogramm | Versuchstag | Uhrzeit | GC-IMS-Spektrogramm |
|------------------|-------------|-----------|---------------------|
| Raumluft 1 | 1 | 10.00 Uhr | Raumluft 40 °C |
| Raumluft 2 | 2 | 8.30 Uhr | Raumluft 80 °C |
| Raumluft 3 | 2 | 14.00 Uhr | Raumluft 100 °C |

Für diesen Versuch werden ebenfalls je drei Ausatemluft-Spektrogramme der DMS und GC-IMS miteinander verglichen. In Tabelle 8 werden die Bezeichnungen der Spektrogramme und ihren zeitlichen Parametern zusammengefasst.

Tabelle 8: Zusammenfassung entscheidender zeitlicher Parameter der DMS- und GC-IMS-Spektrogramme

| DMS-Spektrogramm | Versuchstag | Uhrzeit | GC-IMS-Spektrogramm |
|------------------|-------------|-----------|---------------------|
| Ausatemluft 1 | 1 | 12.00 Uhr | Ausatemluft 40 °C |
| Ausatemluft 2 | 2 | 11.30 Uhr | Ausatemluft 80 °C |
| Ausatemluft 3 | 2 | 13.15 Uhr | Ausatemluft 100 °C |

Die GC-IMS-Spektrogramme der Raum- und Ausatemluft wurden auch hier in Abhängigkeit von der jeweiligen GC-Säulentemperatur gewählt.

Es soll untersucht werden, inwiefern sich die Spektrogramme durch das Variieren der GC-Säulentemperatur verändern und welche die optimale Temperatur für Messungen mit dem GC-IMS-Prototypen ist.

Bei beiden Versuchen ist zu beachten, dass sich die ausgewählten Temperaturen der GC-Säule von den tatsächlich auftretenden Temperaturen unterscheiden. Die tatsächliche Temperatur der GC-Säule wird mit Hilfe eines geräteinternen Sensors bestimmt. Nachfolgend werden gewählte und tatsächliche GC-Säulentemperatur gegenübergestellt (Tabelle 9).

Tabelle 9: Gegenüberstellung der gewählten und tatsächlichen GC-Säulentemperatur

| Bezeichnung des GC-IMS-Spektrogramms | gewählte GC-Säulentemperatur | tatsächliche GC-Säulentemperatur t |
|--------------------------------------|------------------------------|------------------------------------|
| Raumluft 40 °C | 40 °C | 51,51 °C |
| Raumluft 80 °C | 80 °C | 83,4 °C |
| Raumluft 100 °C | 100 °C | 104 °C |
| Ausatempluft 40 °C | 40 °C | 57,04 °C |
| Ausatempluft 80 °C | 80 °C | 84 °C |
| Ausatempluft 100 °C | 100 °C | 104,11 °C |

Die gewonnenen GC-IMS-Spektrogramme wurden für die Auswertung transformiert, sodass diese und die DMS-Spektrogramme mit der Klassifizierungssoftware ausgewertet werden konnten. Die Ergebnisse sind in Abschnitt 4.3 abgebildet und werden anschließend in Kapitel 5.3 erläutert.

3.4.1.4 Messung des Headspace von mit Mykobakterien beimpften Nährböden mittels DMS und GC-IMS

Ziel dieses Versuches war die Untersuchung der Vermehrung eines Bakterienstamms über vier Wochen und der Veränderung der Spektrogramme des Headspace der verwendeten HEYM-Röhrchen. Dabei sollten biochemische Prozesse durch die Bakterien anhand des Headspace beimpfter Nährböden nachvollzogen werden. Die Nährböden, wie in 3.4.1.2 beschrieben, wurden mit verschiedenen Kulturen beimpft und über vier Wochen in einem Inkubator bei einer Temperatur von 37 °C aufbewahrt.

Die Bakterienkulturen sollten während der Inkubation die Inhaltsstoffe der Nährböden verstoffwechseln. Einige Substanzen sollten verbraucht, andere wiederum in höherer Konzentration auftreten oder neu entstehen. Der Headspace der HEYM-Röhrchen sollte sich dementsprechend verändern, was sich in den Spektrogrammen widerspiegeln sollte. Die Temperatur der HEYM-Röhrchen wurde während jedes Messvorgangs mit Hilfe einer Heizvorrichtung beibehalten. Der Headspace über den Nährböden wurde durch das jeweilige Spektrometer abgesaugt, während gefilterte Raumluft nachströmte. Der GC-IMS-Prototypen der Firma STEP und das DMS bzw. der microAnalyzer™ der Firma Sionex (Seriennummer 0135) analysierten anschließend die Proben. Die Messreihe wurde mit zwei DMS durchgeführt. Für die Ergebnisse und Diskussion der vorliegenden Arbeit werden jedoch nur die Spektrogramme eines DMS verwendet.

Die für diesen Versuch verwendeten Parameter und das Messprogramm des DMS bzw. des microAnalyzers™ werden in Tabelle 4 und Tabelle 5 beschrieben. Die Temperatur der GC-Säule des Prototypen betrug für den Versuch 60 °C. Der Detektor wurde auf eine Temperatur von 80 °C erhitzt. Der Versuchsaufbau ist in Abbildung 27 dargestellt.



Abbildung 27: Versuchsaufbau mit zwei DMS. In der Mitte das GC-IMS von STEP. Der Versuch wurde mit zwei DMS durchgeführt. Für die vorliegende Arbeit werden die Spektrogramme eines DMS ausgewertet.

Bei dem untersuchten Bakterienstamm handelte es sich um einen Stamm des *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* (MAP), das Paratuberkulose hervorruft.

Mit Hilfe des beschriebenen Versuches können erste Erkenntnisse bezüglich der Veränderung der mit MAP beimpften Nährböden gewonnen werden, um die Diagnostik in der Veterinärmedizin zu vereinfachen. Wichtig ist vor allem, ob die Änderungen der Röhrenluft durch die Bakterien mit den Spektrometern detektierbar sind. Desweiteren wurde untersucht, ab welchem Zeitpunkt eine Paratuberkulose-Infektion eindeutig feststellbar ist. Aufbauend auf diesen Untersuchungen sollen langfristig Versuche zur Identifikation von MRSA stattfinden. Zur Identifikation von MRSA können zunächst ebenfalls beimpfte Nährböden als Proben dienen, um die für MRSA charakteristischen Peaks zu ermitteln. Die Nährböden können anschließend über einen längeren Zeitraum untersucht werden, um die Veränderungen der Peaks mit anwachsender Bakterienpopulation zu beobachten.

Die für diesen Versuch benötigte Bakterienvorkultur, die eine ausreichende Größe und Dichte des Bakterienstamms gewährleistet, wurde am 15.01.2013 angesetzt. Die Beimpfung der HEYM-Röhren wurde am 22.01.2013 durchgeführt. Anschließend

wurden alle für diesen Versuch benötigten HEYM-Röhrchen bei 37 °C inkubiert. Die Messversuche fanden am 05.02.2013 und 19.02.2013 im Friedrich-Loeffler-Institut-Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit Jena statt.

In der Kennzeichnung der HEYM-Röhrchen spiegeln sich die Art der Beimpfung und die Messtermine wider. Mit Hilfe der Tabelle 10 wird diese erläutert.

Tabelle 10: Erklärung zur Kennzeichnung der Proben

| Nährmedien | |
|------------|--|
| - | HEYM mit Mycobactin J und ANV von BD |
| - | MB-Bouillon ¹⁵ mit Mycobactin |

| Varianten | |
|-----------|--|
| A | HEYM beimpft mit nativer MB-Bouillon |
| D | HEYM beimpft mit Vorkultur im Original |

| Messzeitpunkte | |
|----------------|---|
| a | die gleichen Röhrchen 2 und 4 Wochen nach Beimpfung |
| b | jeweils neue Röhrchen 2 Wochen nach Beimpfung |
| d | jeweils neue Röhrchen 4 Wochen nach Beimpfung |

Jede Probe wurde zweimal angelegt. Dieser Sachverhalt ist anhand der Tabelle 11 erkennbar. Die Proben wurden wie folgt gekennzeichnet.

¹⁵ flüssiges Nährmedium

Tabelle 11: Liste der zu untersuchenden Proben mit deren Gruppenzuordnung für die Auswertung

| Messzeitpunkt | Probenbezeichnung | Gruppenzuordnung für Auswertung |
|--------------------------------|-------------------|--|
| Analyse nach 2 und 4 Wochen | Aa-1 und Aa-2 | Nährboden 2 W (n=4) Nährboden 4 W (n=4) |
| | Da-1 und Da-2 | Bakterien 2 W (n=2) Bakterien 4 (n=2) |
| Analyse in Versuchswoche 2 | Db-1 und Db-2 | Bakterien 2 W (n=2) |
| Analyse in Versuchswoche 4 | Dd-1 und Dd-2 | Bakterien 4 W (n=2) |

Die Proben „Aa-1“ und „Aa-2“ waren beispielsweise zwei HEYM-Röhrchen, die mit nativer MB-Bouillon beimpft wurden, und deren Headspace innerhalb der 4 Versuchswochen zweimal mit den Spektrometern analysiert wurde. Die Proben Aa-1 und Aa-2 wurden pro Versuch je zweimal analysiert, um eine gleiche sowie höhere Anzahl an Spektrogrammen für die Auswertung zu erhalten.

Die Auswahl der Proben wurde bewusst auf diese Weise gewählt, um die gleiche Anzahl an Spektrogrammen für jede Probenart in die Analyse mit der Klassifizierungssoftware einbringen zu können. In Tabelle 11 werden die Proben den jeweiligen Spektrogrammgruppen für die Auswertung mit Hilfe der Klassifizierungssoftware zugeordnet. Diese Gruppenbezeichnungen sind vor allem in Kapitel 4.4 und 5.4 sind von Bedeutung.

Die Versuche bzw. das Öffnen der Röhrchen fand unter einer Abzugshaube statt, um die Wahrscheinlichkeit einer Infektion mit MAP im Falle eines Austritts der Bakterien und damit einhergehendem Kontakt zu minimieren. Jegliches Material (Schläuche, Deckel etc.), das mit dem Inhalt der Röhrchen in Kontakt gekommen sein könnte, wurde in einem speziell dafür vorgesehenen Abfalleimer entsorgt.



Abbildung 28: Versuchsaufbau. Rechts: Heizvorrichtung mit darin befindlichen, auf 37 °C erwärmte HEYM-Röhrchen. Unten: microAnalyzer™. Links oben: GC-IMS-Prototyp.

Für die Auswertung des Versuchs wurden die GC-IMS-Spektrogramme umgewandelt, sodass die Spektrogramme mit der Klassifizierungssoftware analysiert werden konnten. Die ermittelten Peaks der DMS- und GC-IMS-Spektrogramme werden mit Hilfe von Boxplots ausgewertet, da vier Spektrogramme pro Spektrogrammgruppe ausgewertet werden. Die Auswertung der medianen Intensitätswerte ist präziser als die der gemittelten Intensitätswerte. Die in dem Versuch gewonnenen Ergebnisse werden in Kapitel 4.4 präsentiert und unter der Absatznummer 5.4 diskutiert.

4 Ergebnisse

In diesem Kapitel werden die Ergebnisse der unter 3.4 beschriebenen Versuche präsentiert.

4.1 Untersuchung der Spektrogramme des IMS, des provisorischen Aufbaus einer GC-IMS-Kopplung und des GC-IMS-Prototypen der Firma STEP

In diesem Abschnitt werden die Spektrogramme der Raumlufte und der Ausatemluft eines Probanden, die mit Hilfe verschiedener Spektrometer erstellt wurden, dargestellt.

4.1.1 Spektrogramme der Raumlufte

Abbildung 29 zeigt drei Spektrogramme der Raumlufte, die unterschiedlichen Spektrometern aufgenommen wurden. Die Spektrogramme können miteinander verglichen werden, um die Notwendigkeit des Vorschaltens einer GC-Säule vor das IMS zu belegen.

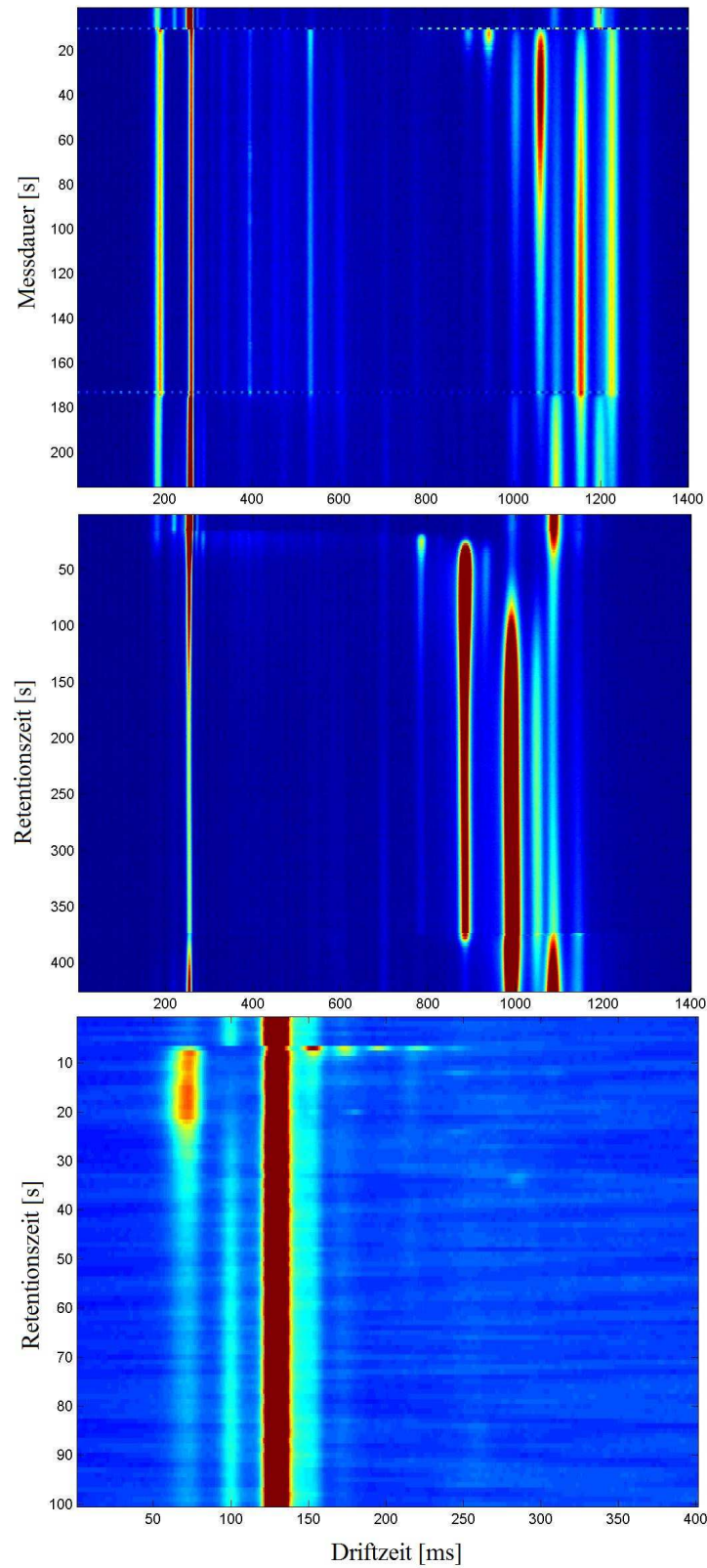


Abbildung 29: Spektrogramme der Raumluft. Oben: IMS-Spektrogramm. Mitte: Mit der provisorischen GC-IMS-Kopplung aufgenommenes Spektrogramm. Unten: Mit dem GC-IMS-Prototypen aufgenommenes Spektrogramm. Für die Darstellung wurde ein Ausschnitt vergrößert, da die alle Peaks nach kurzer Retentionszeit

im Spektrogramm auftreten. Auf der x-Achse der drei Spektrogramme wird die Driftzeit in ms aufgetragen.

Die Spektrogrammen unterscheiden sich optisch voneinander. Das obere Spektrogramm der Abbildung 29, das mit einem IMS ohne vorgeschaltete GC-Säule aufgenommen wurde, zeigt, dass sich kurz nach dem Öffnen des Einlassventils der IMS-Messzelle, nach einer Messdauer von ca. 10 s, diverse Peaks aus bilden. Der Reaktantionenpeak (RIP) dieses IMS liegt bei einer Driftzeit von rund 270 ms. Neben dem RIP sind diverse niedrig, aber auch höher ausgeprägte Peaks im Spektrogramm zu erkennen. Bei einer Driftzeit von 190 ms tritt der erste deutlich ausgebildete Peak auf. Nach dem RIP bis hin zu einer Driftzeit von 600 ms bilden einige kleine, nur schwer erkennbare Peaks aus. Auffällig sind zwei Peaks, die nach einer Driftzeit von etwa 890 ms und 910 ms zu erkennen sind. Diese werden während der gesamten Messdauer nur 5 bis 10 s detektiert. Dieses Peak-Verhalten tritt im Spektrogramm bei anderen Peaks nicht auf. Alle anderen Peaks bilden sich vom Öffnen bis zum Schließen des Einlassventils (nach ca. 175 s) aus. Genauso verhalten sich die drei stärker ausgeprägten Peaks, die sich ab einer Driftzeit von 1000 ms darstellen.

Das mittlere Spektrogramm der Abbildung 29 wurde mit Hilfe der provisorischen GC-IMS-Kopplung erzeugt. Der Beginn der Retentionszeit in den Spektrogrammen der provisorischen GC-IMS-Kopplung stimmt mit dem Aufzeichnungsbeginn der Messung überein. Die Retentionszeit in den Spektrogrammen entspricht der Dauer der gesamten Messaufzeichnung. Die Zeit vor dem Öffnen des Einlassventils zählt ebenfalls zur Retentionszeit. Dieser Sachverhalt resultiert aus dem Aufbau der provisorischen GC-IMS-Kopplung. Um die reine Retentionszeit der Substanzen zu erhalten, muss die Zeit vor dem Öffnen des Einlassventils von der Gesamtretentionszeit bzw. der Messdauer abgezogen werden. Das Ventil des Einlasses wurde bei dieser Messung der Raumluft nach einer Messdauer von 15 s geöffnet. Der RIP liegt bei rund 270 ms. Unmittelbar nach dem Öffnen des Ventils sind vor und nach dem RIP bzw. ab einer Driftzeit von 270 ms gering ausgeprägte Peaks erkennbar, deren Höhe mit fortschreitender Retentionszeit abnimmt. Der Peak, der im IMS-Spektrogramm bei einer Driftzeit von 190 ms noch stark ausgeprägt war, ist in dieser Messung verschwunden. Dieser Peaks wird als Luftfeuchte- oder Wasser-Peak bezeichnet.

Bei einer Driftzeit von 790 ms ist ein abgetrennter Peak zu sehen, der nach einer Retentionszeit von 20 s auftritt. Im weiteren Verlauf der Messung (nach einer Retentionszeit von 50 s) nimmt dieser Peak stark ab, dehnt sich aber dennoch über das gesamte Spektrogramm bis zu Schließen des Einlassventils aus. Nach einer Retentionszeit von 30 s und bei einer Driftzeit von 910 ms ist ein sehr stark ausgebildeter Peak entstanden, der sich ebenfalls bis zum Schließen des Einlassventils in dem Spektrogramm darstellt. Ähnlich stellt sich der bei einer Driftzeit von 990 ms und einer Retentionszeit von 100 s auftretende Peak dar. Gegenüber diesen beiden sehr stark ausgeprägten Peaks besitzt der langgezogene Peak mit der Retentionszeit von 150 s und einer Driftzeit von 1050 ms nur eine geringe Peakhöhe.

Ein anderes Verhalten weist der Peak bei einer Driftzeit von 1100 ms auf. Vor dem Öffnen des Einlassventils ist er sehr stark ausgeprägt. Nach dem Öffnen des Einlassventils verringert sich die Höhe des Peaks stark, nimmt aber ab einer Retentionszeit von 300 s wieder leicht zu. Nach einer Retentionszeit von etwa 375 s wurde das Einlassventil geschlossen. Der Peak bildet sich daraufhin wieder so stark wie vor dem Öffnen des Einlassventils aus.

Insgesamt fällt auf, dass in diesem Spektrogramm weniger Peaks detektiert wurden, als im IMS-Spektrogramm der Abbildung 29. Zudem liegen die Driftzeiten näher beieinander (zwischen 790 ms bis 1100 ms), während die Peaks in dem IMS-Spektrogramm bis zu einer Driftzeit von 1250 ms auftreten.

Das Spektrogramm des GC-IMS-Prototypen in Abbildung 29 zeigt lediglich einen Ausschnitt des gesamten Spektrogramms. Die Substanz-Peaks treten alle nach einer sehr kurzen Retentionszeit im Spektrogramm auf. Die Retentionszeit beginnt, anders als bei dem IMS und der provisorischen GC-IMS-Kopplung, mit dem Öffnen des Einlassventils der IMS-Messzelle. Bei diesem Spektrometer wird, laut Hersteller, die reine Retentionszeit der Substanzen aufgezeichnet. Der RIP dieses Spektrometers liegt bei einer Driftzeit von 125 ms. Der erste größere Peak tritt bei einer Retentionszeit von 10 s und einer Driftzeit von 75 ms auf. Ab einer Driftzeit von 150 ms treten sofort nach dem Öffnen des Messzellen-Einlassventils vier stark ausgeprägte, jedoch getrennte Peaks auf. Die Retentionszeit dieser Peaks ist gering. Bei genauerer Betrachtung sind noch sechs weitere, aber geringer ausgeprägte Peaks zu sehen. Alle zehn Peaks sind

voneinander getrennt und treten kurz in dem gesamten Spektrogramm auf. Sie sind nicht großflächig und über die ganze Messung ausgebildet. Verunreinigungen treten in diesem Spektrogramm nur schwach ausgeprägt auf.

4.1.2 Spektrogramme der Ausatemluft

Die Versuchsreihe ergab die in Abbildung 30 dargestellten Spektrogramme, die indirekt miteinander verglichen werden können.

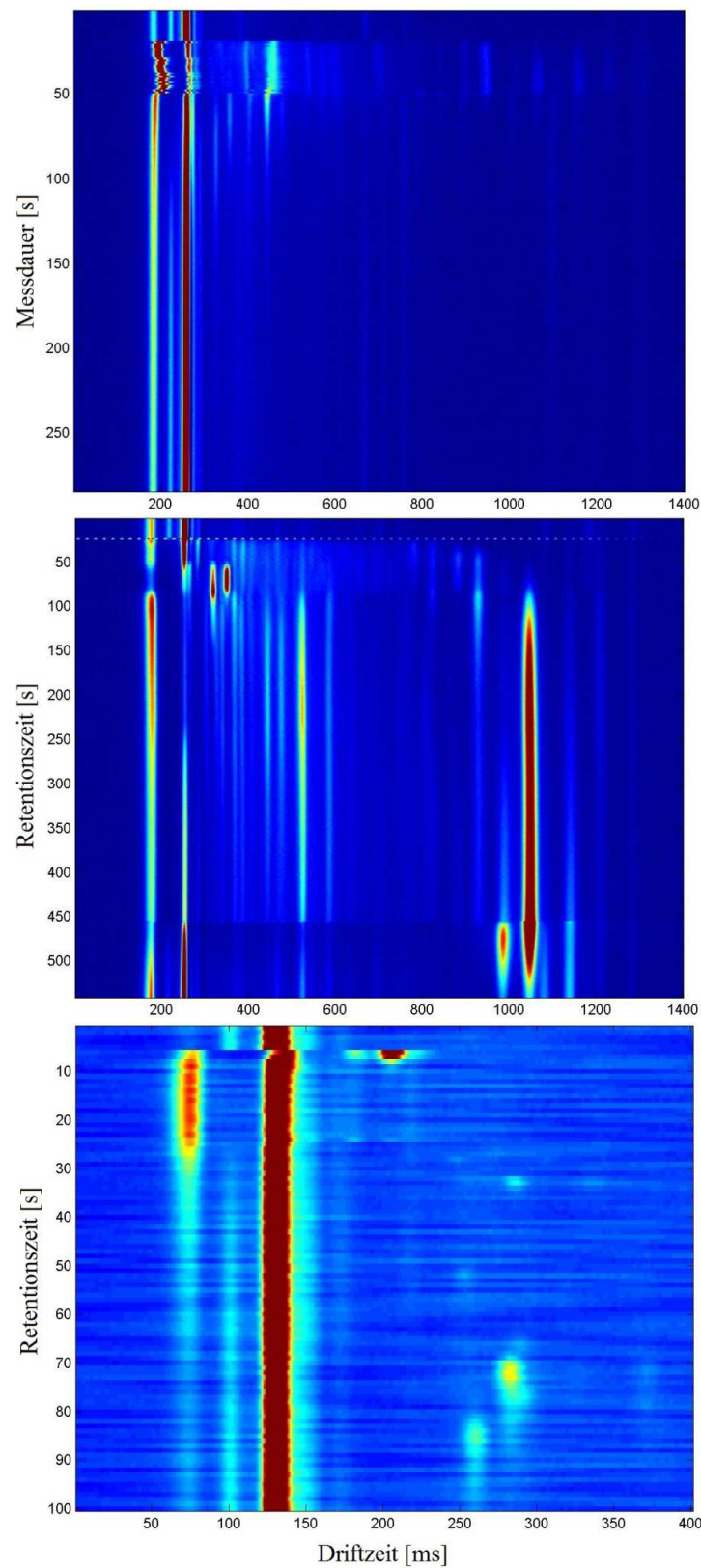


Abbildung 30: Spektrogramme der Ausatemluft. Oben: IMS-Spektrogramm. Mitte: Mit der provisorischen GC-IMS-Kopplung aufgenommenes Spektrogramm. Unten: Mit dem GC-IMS-Prototypen aufgenommenes Spektrogramm. Für die Darstellung wurde ein Ausschnitt vergrößert, da alle Peaks nach kurzer Retentionszeit im

Spektrogramm auftreten. Auf der x-Achse der drei Spektrogramme wird die Driftzeit in ms aufgetragen.

Das IMS-Spektrogramm der Abbildung 30 zeigt, dass das Einlassventil der IMS-Messzelle nach einer Messdauer von 20 s geöffnet wurde. Der Proband atmete daraufhin 30 s lang aus. Es ist zu sehen, dass sich das Spektrogramm während dieser 30 s stark verschmiert bzw. verwischt darstellt. Die Peaks werden in der Richtung der Driftzeit leicht verschoben. Der RIP liegt bei 270 ms und ist während dieser Probenansaugzeit gering ausgeprägt. Der Luftfeuchte-Peak ist stattdessen sehr stark ausgeprägt. Aufgrund der Verwischung sind kaum weitere Peaks feststellbar. Bei genauerer Betrachtung sind einige niedrige Peaks sichtbar. Bei einer Driftzeit von 400 ms und 450 ms bilden sich zwei höhere Peaks aus, die sich nur während der 30 s der Ausatemluftzufuhr ausbilden. Die Anzahl der Peaks ist insgesamt sehr gering.

Das mit Hilfe der provisorisch aufgebauten GC-IMS-Kopplung aufgenommene Spektrogramm zeigt, dass das Öffnen des Einlassventils nach 20 s erfolgte. Anschließend atmete der Proband für 30 s über das Atemrohr aus. Der RIP bildet sich bei Driftzeit von 270 ms aus. Bei diesem Spektrogramm wird erkennbar, dass der RIP rund 50 s nach dem Öffnen des Ventils bzw. bei einer Retentionszeit von 80 s abnimmt bzw. verschwindet. Simultan dazu steigt der vor dem RIP und bei einer Driftzeit von 190 ms liegende Luftfeuchte-Peak an. Das entgegengesetzte Verhalten ist nach einer Retentionszeit von 240 s zu beobachten. Der RIP nimmt wieder zu, während dieser Peak abnimmt. Ein ähnliches Peak-Verhalten weist der bei einer Driftzeit von 520 ms auftretende Peak auf. Er steigt ab einer Retentionszeit von 80 s an und nimmt nach 240 s wieder ab. Ebenfalls die vielen niedrigen und langgezogenen Peaks (ab einer Driftzeit von 300 s) zeigen solch eine Veränderung der Peakintensitäten. Der deutlich sichtbare, langgezogene Peak, der sich bei einer Driftzeit von 1070 ms ausbildet, nimmt ebenfalls erst ab der Retentionszeit von 80 s zu. Seine Peakhöhe verringert sich nach dem Schließen des Einlassventils.

Die zwei sich bei einer Driftzeit von 400 ms und 450 ms ausbildenden Peaks treten schon ab einer Retentionszeit von 50 s auf. Nach einer Retentionszeit von 100 s werden diese beiden Peaks nicht mehr durch die IMS-Messzelle detektiert. Auch der niedrige Substanz-Peak, der sich bei einer Retentionszeit von 80 s und einer Driftzeit von 930 ms

ausbildet, weist ein ähnliches Verhalten auf. Allerdings besitzt er eine andere Retentionszeit.

Das Spektrogramm des GC-IMS-Prototypen unterscheidet sich auch in diesem Fall bereits optisch von den beiden anderen Spektrogrammen. Der RIP des Spektrogramms des GC-IMS-Prototypen liegt bei 125 ms. Vor dem RIP und bei einer Driftzeit von 75 ms bildet sich der Luftfeuchte-Peak aus. Im direkten Vergleich zu dem Spektrogramm der Raumluft wird ersichtlich, ist seine Intensität des Peaks höher und er erstreckt sich über einen Retentionszeitraum von 30 s. Ab einer Driftzeit von 130 s sind 11 Peaks zu erkennen. Was in diesem Spektrogramm deutlich wird, ist die Trennung der einzelnen Substanzen nach deren Retention. Die Anzahl an Substanz-Peaks ist dennoch eher gering.

4.2 Untersuchung verschiedener Proben mit Hilfe der provisorisch aufgebauten GC-IMS-Kopplung und der DMS

In diesem Kapitel werden die Ergebnisse des in 3.4.1.2 beschriebenen Versuchs präsentiert.

4.2.1 Analyse der Raumluft

Für die Analyse der Raumluft ergaben sich die in Abbildung 31 dargestellten GC-IMS-Spektrogramme.

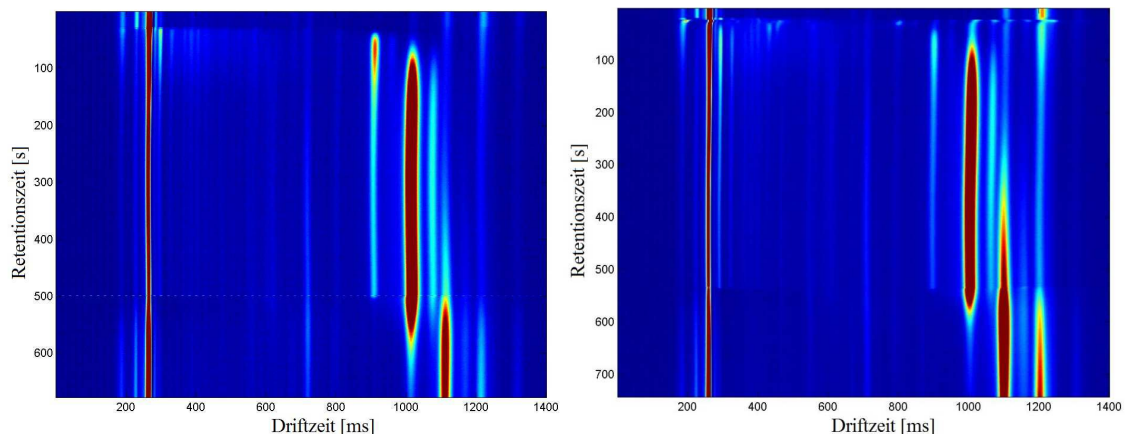


Abbildung 31: Mit der provisorisch aufgebauten GC-IMS-Kopplung aufgenommene Spektrogramme der Raumluft. Links: Temperatur der GC-Säule beträgt 80 °C. Rechts: Temperatur der GC-Säule beträgt 100 °C.

Zwischen den beiden Spektrogrammen sind optische Unterschiede zu erkennen. Einige Peaks bilden sich stärker, andere wiederum schwächer aus. Manche Peaks bilden sich wiederum später in den Spektrogrammen aus als andere. Auffällig ist die Verschiebung des rechten Spektrogramms nach einer Messdauer von 20 s. Nach 20 s wurde das Einlassventil des IMS geöffnet und die aus der GC-Säule strömenden, vorgetrennten Substanzen analysiert. Desweiteren sind Verunreinigungen in diesem GC-IMS-Spektrogramm zu sehen. Die Anzahl an Peaks ist auf sechs Peaks begrenzt. Die meisten Peaks werden über einen langen Zeitraum in den Spektrogrammen dargestellt bzw. bilden sich nach dem Schließen des Einlassventils der IMS-Messzelle zurück. Für die in

Tabelle 12 zusammengetragenen Informationen der Peaks ist jeweils die höchste Intensität der Peaks und deren Lage bestimmt worden.

Tabelle 12: Fünf ausgewählte Peaks der Raumluft-Spektrogramme der provisorischen GC-IMS-Kopplung im isothermen GC-Modus (siehe Abbildung 31)

| | Raumluft GC-Säule 80 °C | Raumluft GC-Säule 100 °C |
|--------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| Peak 1 | RT: 32 s, DZ: 191 ms I: 4,724 V | RT: 24 s, DZ: 196 ms I: 11,12 V |
| Peak 2 | RT: 34 s, DZ: 299 ms I: 8,496 V | RT: 68 s, DZ: 294 ms I: 8,069 V |
| Peak 3 | RT: 63 s, DZ: 912 ms I: 12,64 V | RT: 66 s, DZ: 904 ms I: 6,262 V |
| Peak 4 | RT: 215 s, DZ: 1016 ms I: 39,44 V | RT: 215 s, DZ: 1009 ms I: 34,5 V |
| Peak 5 | RT: 224 s, DZ: 1076 ms I: 5,951 V | RT: 224 s, DZ: 1069 ms I: 5,902 V |

Als erstes wird ein Peak betrachtet, der in beiden Spektrogrammen annähernd die gleiche Driftzeit aufweist. Im linken Spektrogramm der Abbildung 31 besitzt Peak 1 eine Intensität von 4,724 V. Im rechten Spektrogramm erreicht er sogar eine Höhe von 11,12 V. Bei diesem Peak handelt es sich um den Luftfeuchte-Peak. Es fällt auf, dass sich die Retentionszeit und die Driftzeit von einem zum anderen Spektrogramm leicht verändert. Ein anderes Verhalten weist Peak 2 auf. Im linken Spektrogramm bildet sich dieser bei einer Retentionszeit von 34 s aus. In dem Spektrogramm, bei dem die GC-Säulentemperatur 100 °C betrug, tritt er bei einer Retentionszeit von 68 s. Der Peak ist in Richtung der Retentionszeit verschoben und erstreckt sich bis zum Schließen des Einlassventils. Die Driftzeit ist in beiden Spektrogrammen ähnlich. Auch die Intensitäten des Peaks sind annähernd gleich.

Die Retentionszeiten und Driftzeiten des Peaks 3 sind nahezu gleich. Allerdings unterscheiden sich seine Intensitäten. Im linken Spektrogramm beträgt die Intensität

12,64 V und in dem rechten 6,262 V. Die Peaks 4 und 5, weisen ein ähnliches Verhalten auf. In beiden Spektrogrammen liegen annähernd gleiche Retentionszeiten, Driftzeiten und Peakintensitäten vor. Peak 4 und 5 unterscheiden sich somit kaum in den beiden Spektrogrammen. Bis zum Schließen des Einlassventils werden die Substanzen detektiert.

Folgend werden die DMS-Spektrogramme der Versuchsreihe präsentiert. Abbildung 32 zeigt zwei Spektrogramme der Raumluft, die mit dem DMS unter isothermer Beheizung der GC-Säule aufgenommen wurden.

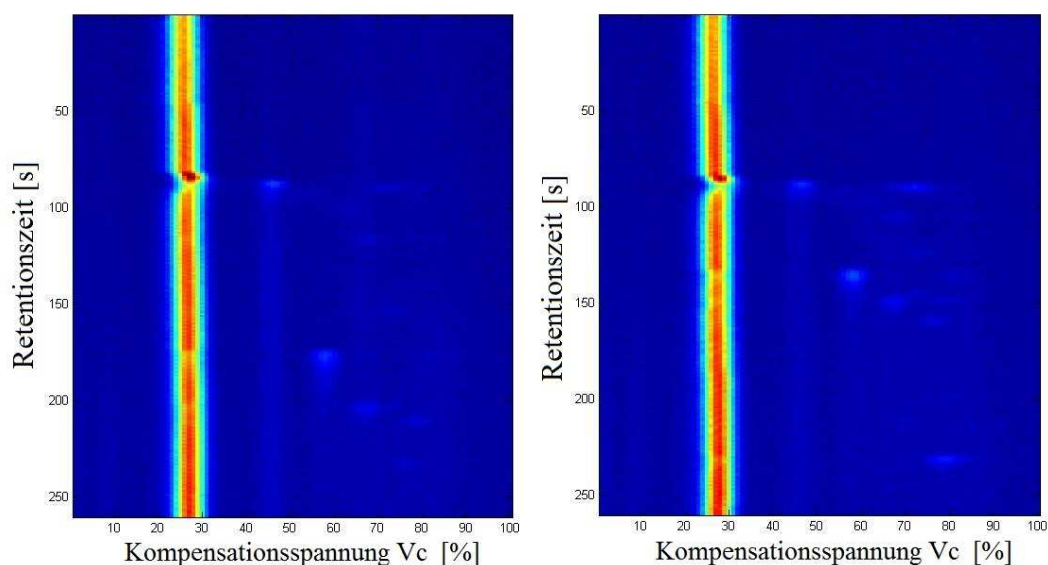


Abbildung 32: Mit dem microAnalyzer™ aufgenommene Spektrogramme der Raumluft. Links: GC-Säule wird isotherm bei 80 °C beheizt. Rechts: GC-Säule wird isotherm bei 100 °C beheizt.

Optisch sind zwischen den beiden Spektrogrammen bereits Unterschiede zu erkennen. Die Peaks des linken Spektrogramms sind gleichmäßig über das gesamte Spektrogramm verteilt, während die des rechten Spektrogramms in negativer Richtung der Retentionszeit verschoben sind. Die Anzahl der Peaks in beiden Spektrogrammen ist jedoch annähernd gleich. Die beiden Spektrogramme wurden mit Hilfe der Klassifizierungssoftware verglichen. In dem Raumluft-Spektrogramm, das unter einer GC-Säulentemperatur von 80 °C erzeugt wurde, bilden sich laut Auswertesoftware 26 Peaks aus. In dem Raumluft-Spektrogramm, für das die GC-Säule auf 100 °C

temperiert wurde, können sogar 27 Peaks festgestellt werden. In Tabelle 13 werden fünf der in den Spektrogrammen erkennbaren Peaks repräsentativ miteinander verglichen.

Tabelle 13: Fünf ausgewählte Peaks der Raumluft-Spektrogramme des microAnalyzers™ im isothermen GC-Säulen-Modus (siehe Abbildung 32)

| | Peak 1 RT: 87 s Vc: -8,64 V | Peak 28 RT: 134 s Vc: -5,61 V | Peak 11 RT: 168,22 s Vc: -8,64 V | Peak 13 RT: 182,5 s VC: -5,61 V | Peak 24 RT: 230,5 s Vc: -0,56 V |
|------------------------|--|--|---|--|--|
| Raumluft GC: 80 °C | 0,038 V | 0 V | 0,011 V | 0,035 V | 0,011 V |
| Raumluft GC: 100 °C | 0,033 V | 0,043 V | 0,008 V | 0 V | 0,031 V |

Peak 1 besitzt annähernd die gleiche Intensität und erfährt keine Lageverschiebung in Richtung der Retentionszeit. Ein anderes Verhalten weist Peak 28 auf. In dem linken Spektrogramm bildet sich der Peak nicht aus, in dem rechten besitzt er eine Intensität von 0,043 V. Als Gegenteil dazu stellt sich Peak 13 dar. Er besitzt in dem Spektrogramm, das mit einer GC-Säulentemperatur von 80 °C erzeugt wurde, eine Intensität von 0,35 V, in dem anderen Spektrogramm wird er nicht dargestellt. Die beiden Peaks besitzen die gleiche Kompensationsspannung und eine ähnliche Intensität, sind jedoch in ihrer Retentionszeit verschoben. Dieses Verhalten ist ebenfalls bei weiteren Peaks zu beobachten. Zur Verdeutlichung dieses Sachverhalts dient Abbildung 33.

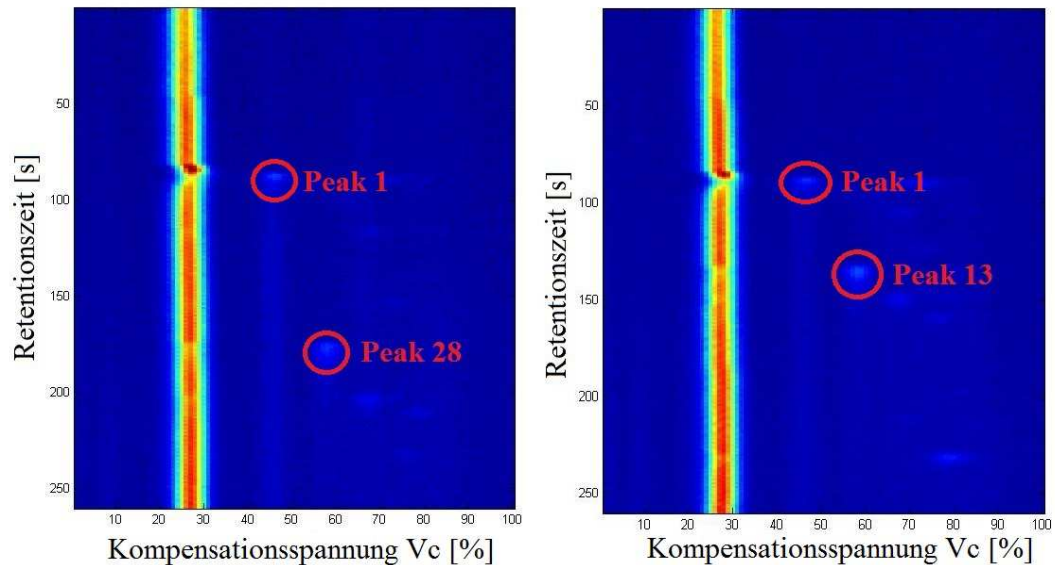


Abbildung 33: Verdeutlichung der Lageverschiebungen bestimmter Peaks (Peak 28 und Peak 13) aufgrund veränderter GC-Säulentemperatur. Peak 1 erfährt keine Lageverschiebung. Links: GC-Säulentemperatur beträgt 80 °C. Rechts: GC-Säulentemperatur beträgt 100 °C.

Trotz der Lageverschiebungen der Peaks ist es möglich, Peak-Anordnungen bzw. bestimmte Peak-Muster in den Spektrogrammen wieder zu erkennen. Diese Muster sind insgesamt in Richtung der Retentionszeit verschoben. Dieser Sachverhalt wird in Abbildung 34 ersichtlich.

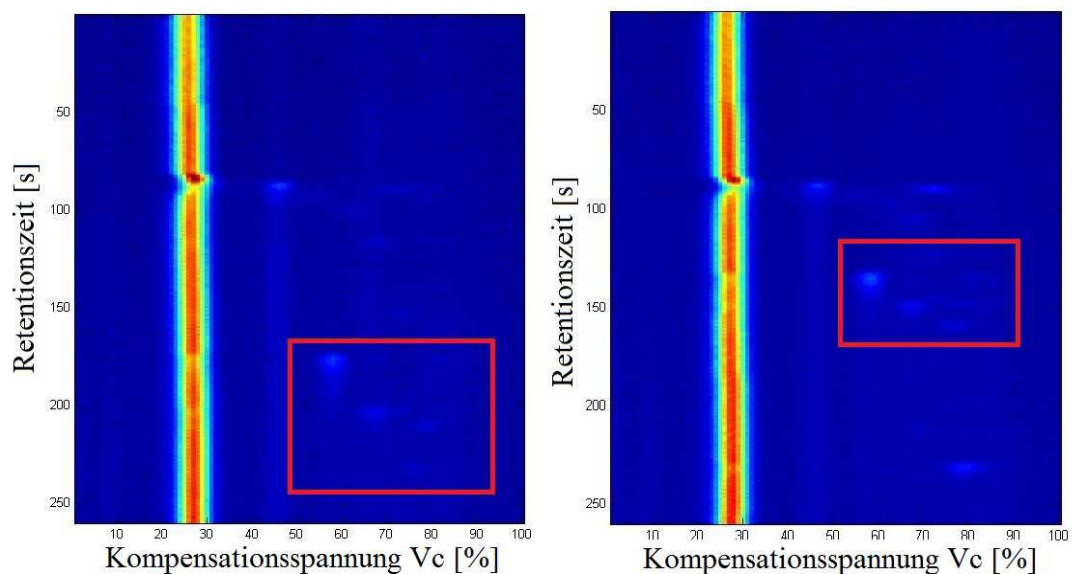


Abbildung 34: Peak-Anordnungen in den Spektrogrammen, die trotz der Lageverschiebungen der Peaks erkennbar sind. Links: GC-Säulentemperatur beträgt 80 °C. Rechts: GC-Säulentemperatur beträgt 100 °C.

Ein anderes Peak-Verhalten zeigt Peak 24. In dem links in Abbildung 32 dargestellten Spektrogramm bildet dieser eine Intensität von 0,011 V aus, in dem rechten Spektrogramm sogar eine Intensität von 0,031 V. Dieses Verhalten tritt nur bei einem weiteren Peak auf.

Anschließend wird ein DMS-Spektrogramm der Raumluft näher betrachtet, dass unter Verwendung einer Temperaturkurve der GC-Säule erzeugt wurde.

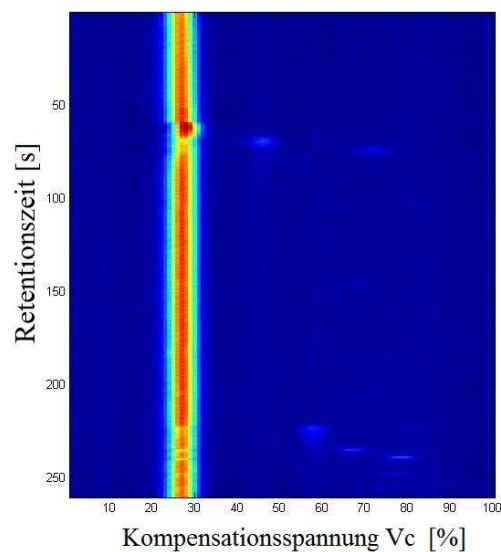


Abbildung 35: Mit dem microAnalyzer™ aufgenommenes Spektrogramm der Raumluft. Die GC-Säule durchläuft eine Temperaturkurve.

Die Peaks des Spektrogramms der Abbildung 35 sind präzise und wenig großflächig dargestellt. Anhand der Analyse, die mit Hilfe der Klassifizierungssoftware erfolgt, wird ersichtlich, dass in dem in Abbildung 35 dargestellten Spektrogramm nur sieben Substanzen detektiert werden. In Tabelle 14 werden fünf dieser sieben eindeutig feststellbaren Peaks durch deren Lage und Intensität repräsentativ beschrieben.

Tabelle 14: Fünf ausgewählte Peaks der Raumluft-Spektrogramme des microAnalyzers™, dessen GC-Säule eine Temperaturkurve durchläuft (siehe Abbildung 35)

| | Peak 3 | Peak 8 | Peak 16 | Peak 18 | Peak 20 |
|----------|---------------|---------------|----------------|----------------|----------------|
| | RT: 71 s | RT: 144,75 s | RT: 222 s | RT: 229,6 s | RT: 242 s |
| | Vc: -8,38 V | Vc:-3,02 V | Vc: -5,61 V | Vc: -3,28 V | Vc:-0,81 V |
| Raumluft | 0,043 V | 0,007 V | 0,034 V | 0,027 V | 0,035 V |

Peak 3, 16, 18 und 20 sind stark ausgeprägt und heben sich eindeutig von dem Untergrundrauschen ab. Peak 8 besitzt nur eine Intensität von 0,007 V und bildet sich damit sehr niedrig aus.

4.2.2 Analyse der Ausatemluft

Zunächst werden die GC-IMS-Spektrogramme der Ausatemluft eines Probanden in Abbildung 36 gegenüber gestellt.

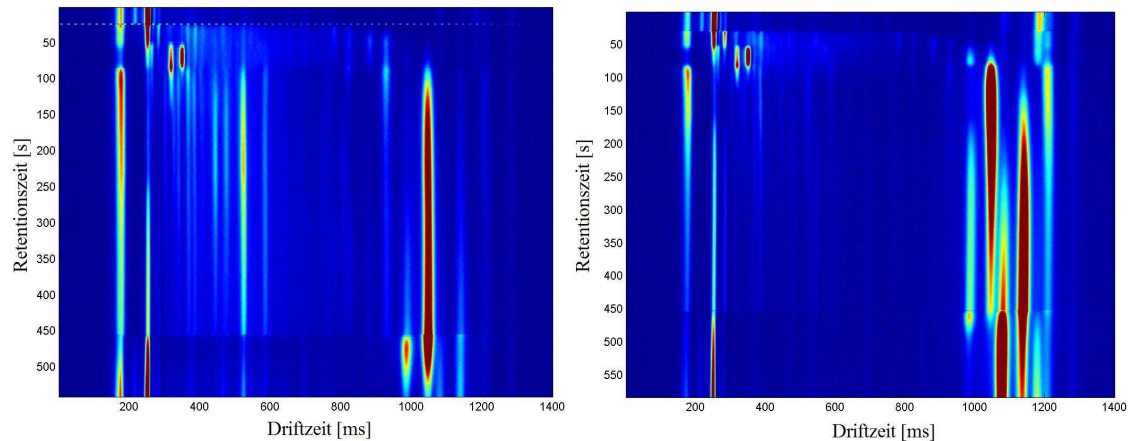


Abbildung 36: Mit der provisorisch aufgebauten GC-IMS-Kopplung aufgenommene Spektrogramme der Ausatemluft eines Probanden. Links: Temperatur der GC-Säule beträgt 80 °C. Rechts: Temperatur der GC-Säule beträgt 100 °C.

Die dargestellten Spektrogramme der provisorischen GC-IMS-Kopplung weisen optische Unterschiede auf. Besonders im rechten Spektrogramm sind im hinteren Driftzeitenbereich stark ausgeprägte Peaks zu erkennen. In dem linken Spektrogramm der Abbildung 36 sind im Bereich kurzer Driftzeiten zusätzliche Peaks feststellbar. Die meisten Peaks werden während einer langen Messdauer bzw. Retentionszeit detektiert werden. Erst nach dem Schließen des Einlassventils der IMS-Messzelle werden die Peaks nicht mehr detektiert. Für eine Analyse der Spektrogramme werden in Tabelle 15 fünf beispielhafte Peaks präsentiert.

Tabelle 15: Fünf ausgewählte Peaks der Ausatemluft-Spektrogramme der provisorischen GC-IMS-Kopplung im isothermen GC-Modus (siehe Abbildung 36)

| | Ausatemluft GC-Säule 80 °C | Ausatemluft GC-Säule 100 °C |
|--------|---------------------------------------|--|
| Peak 1 | RT: 99 s, DZ: 177 ms I: 14,64 V | RT: 98 s, DZ: 178 ms I: 12,26 V |
| Peak 2 | RT: 82 s, DZ: 319 ms I: 19,19 V | RT: 81 s, DZ: 319 ms I: 16,65 V |
| Peak 3 | RT: 91 s, DZ: 930 ms I: 5,316 V | RT: 88 s, DZ: 930 ms I: 1,544 V |
| Peak 4 | RT: 235 s, DZ: 1049 ms I: 20,15 V | RT: 136 s, DZ: 1048 ms I: 40,08 V |
| Peak 5 | RT: 450 s, DZ: 1141 ms I: 3,442 V | RT: 443 s, DZ: 1142 ms I: 29,57 V |

Zunächst wird Peak 1 betrachtet, der in beiden Spektrogrammen annähernd die gleiche Driftzeit aufweist. Im linken Spektrogramm der Abbildung 36 besitzt Peak 1 eine Intensität von 14,64 V. Im rechten Spektrogramm erreicht seine Intensität einen Wert von 12,26 V. In diesen beiden GC-IMS-Spektrogrammen ist dieser Peak allerdings in Richtung der Driftzeit verschoben. In den Spektrogrammen der Raumluft lag dieser Peak bei einer Driftzeit von ca. 190 s. Der Peak tritt nicht nur zu einer bestimmten Driftzeit auf, sondern erstreckt sich über einen bestimmten Driftzeitbereich von rund 20 ms. Auffällig ist, dass sich Peak 1 in beiden Spektrogrammen bei einer ähnlichen Retentionszeit ausbildet. Ein ähnliches Verhalten weisen Peak 2, 3 und 5 auf. Peak 4 bildet in dem linken Spektrogramm der Abbildung 36 bei einer Retentionszeit von 235 s aus, in dem rechten Spektrogramm (100 °C) bei einer Retentionszeit von 136 s. Seine Driftzeiten sind in beiden Spektrogrammen ähnlich. Allerdings unterscheiden sich die Intensitäten.

In Abbildung 37 werden die zwei DMS-Spektrogramme der Ausatemluft eines Probanden unter Verwendung isothermer GC-Säulentemperaturen präsentiert.

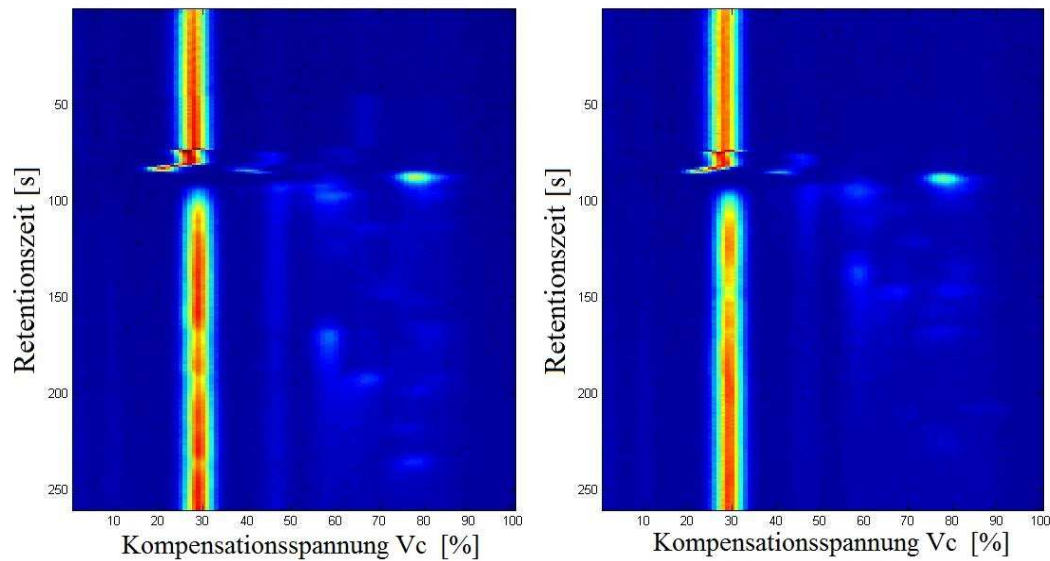


Abbildung 37: Mit dem microAnalyzer™ aufgenommene Spektrogramme der Ausatemluft eines Probanden. Links: GC-Säule wird isotherm bei 80 °C beheizt. Rechts: GC-Säule wird isotherm bei 100 °C beheizt.

Die beiden Spektrogramme ähneln denen der Spektrogramme der Raumluft der Abbildung 32. Im Retentionszeitbereich von 80 bis 90 s tritt eine Verschiebung des RIPs auf.

Die Anzahl der Peaks unterscheidet sich bei diesen beiden Spektrogrammen. Im Spektrogramm der Ausatemluft, das bei einer GC-Säulentemperatur von 80 °C erzeugt wurde, bilden sich laut Klassifizierungssoftware 46 Peaks aus, also 20 Peaks mehr als im Spektrogramm der Raumluft (80 °C) der Abbildung 32. In dem Spektrogramm der Ausatemluft, für das die GC-Säule auf 100 °C temperiert wurde, können nur 37 Peaks ermittelt werden (vgl. Raumluft 27 Peaks). In Tabelle 16 werden fünf der in den Spektrogrammen der Abbildung 37 erkennbaren Peaks genauer betrachtet.

Tabelle 16: Fünf ausgewählte Peaks der Ausatemluft-Spektrogramme des microAnalyzers™ im isothermen GC-Säulen-Modus (siehe Abbildung 37)

| | Peak 1 RT: 51,33 s Vc: -3,33 V | Peak 6 RT: 86,5 s Vc: -0,56 V | Peak 7 RT: 94s Vc: -5,52 V | Peak 48 RT: 140 s Vc: -0,05 V | Peak 18 RT: 143 s Vc: -5,27 V |
|---------------------------|---|--|---|--|--|
| Ausatemluft GC:80 °C | 0,01 V | 0,142 V | 0,052 V | 0 V | 0,007 V |
| Ausatemluft GC: 100 °C | 0 V | 0,137 V | 0,049 V | 0,03 V | 0,046 V |

Peak 1 wird im linken Spektrogramm mit einer Intensität von 0,01 V detektiert, während er im rechten Spektrogramm nicht detektiert wird. Dieses Verhalten weisen drei weitere Peaks auf. Vor allem im Retentionszeitbereich bis 80 s werden Peaks dieser Art im Spektrogramm (80 °C) der Abbildung 37 detektiert. Gegenteilig dazu verhält sich beispielsweise Peak 48. Seine Intensität beträgt in dem Spektrogramm, das unter einer GC-Säulentemperatur von 100 °C aufgezeichnet wurde, 0,03 V. In dem Spektrogramm (80 °C) bildet sich dieser Peak nicht aus. Im hinteren Retentionszeitbereich ab 140 s finden sich neun weitere Peaks dieses Verhaltens. Peak 6 entspricht dem Azeton-Peak. Die Intensitäten des Peaks 6 im linken Spektrogramm (80 °C) und des Peak 6 im rechten Spektrogramm (100 °C) der Abbildung 37 betragen 0,142 V und 0,137 V. Ein weiterer in Tabelle 16 beschriebener Peak ist Peak 7. Die Intensitäten des Peaks in den beiden Spektrogrammen unterscheiden sich nur geringfügig. Anders stellt sich das bei Peak 18 dar. Dieser Peak bildet sich in dem Spektrogramm der GC-Säulentemperatur von 100 °C mit einer Intensität von 0,046 V stärker aus, als in dem Spektrogramm der GC-Säulentemperatur von 80 °C. In diesem Spektrogramm beträgt die Intensität lediglich 0,007 V und liegt damit nur knapp über dem Untergrundrauschen. Bei Untersuchung der einzelnen Peaks des linken Spektrogramms (80 °C) zeigt sich ein Peak (Peak 25), der nicht in der Tabelle 16 aufgeführt ist. Er tritt bei einer Retentionszeit von 186 s und einer Kompensationsspannung von -5,44 V in dem Spektrogramm auf. Seine Intensität beträgt 0,051 V. Durch die unterschiedlichen GC-Säulentemperaturen tritt eine

Lageverschiebung des Peaks auf, wie sie bereits in Abbildung 33 und Abbildung 34 verdeutlicht wurde. Ein solches Verhalten kann bei weiteren Peaks beobachtet werden.

Das DMS-Spektrogramm, das unter Verwendung einer Temperaturkurve für die GC-Säule aufgezeichnet wurde, stellt sich wie in Abbildung 38 dar.

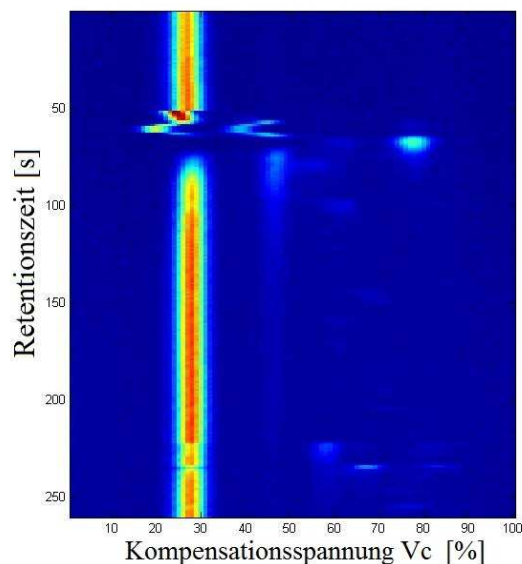


Abbildung 38: Mit dem microAnalyzer™ aufgenommenes Spektrogramm der Ausatemluft eines Probanden. Die GC-Säule durchläuft eine Temperaturkurve.

Optisch unterscheidet sich das Spektrogramm der Abbildung 38 von dem in der Abbildung 35 dargestellten Raumluft-Spektrogramm. Besonders auffällig ist auch hier die Verschiebung des RIPs im Retentionszeitbereich von 60 bis 70 s. Laut Klassifizierungssoftware werden 23 unterschiedliche Peaks detektiert, von denen fünf in Tabelle 17 genauer betrachtet werden. Die Peaks sind in den Spektrogrammen sehr schmal und abgegrenzt dargestellt, anders als bei den Spektrogrammen isothermer GC-Säulentemperatur.

Tabelle 17: Fünf ausgewählte Peaks der Ausatemluft-Spektrogramme des microAnalyzers™, dessen GC-Säule eine Temperaturkurve durchläuft (siehe Abbildung 38)

| | Peak 1 | Peak 2 | Peak 16 | Peak 20 | Peak 21 |
|-------------|---------------|---------------|----------------|----------------|----------------|
| | RT: 63,67 s | RT: 70,5 s | RT: 222 s | RT: 242 s | RT: 244,5 s |
| | Vc: -0,73 V | Vc: -4,85 V | Vc: -5,61 V | Vc: -0,81 V | Vc: -3,33 V |
| Ausatemluft | 0,133 V | 0,017 V | 0,047 V | 0,011 V | 0,008 V |

Peak 1 bildet sich am stärksten aus. Bei diesem Peak handelt es sich um den Azeton-Peak, der bei diesem Probanden je nach Tageszeit unterschiedlich stark ausgeprägt ist. Die Intensitäten der Peaks 2, 16, 20 und 21 sind eher gering ausgeprägt.

4.2.3 Analyse des Headspace des HEYM-Röhrchens

Die Ergebnisse der Analyse des Headspace des HEYM-Röhrchens mit Hilfe der provisorischen GC-IMS-Kopplung werden in Abbildung 39 dargestellt.

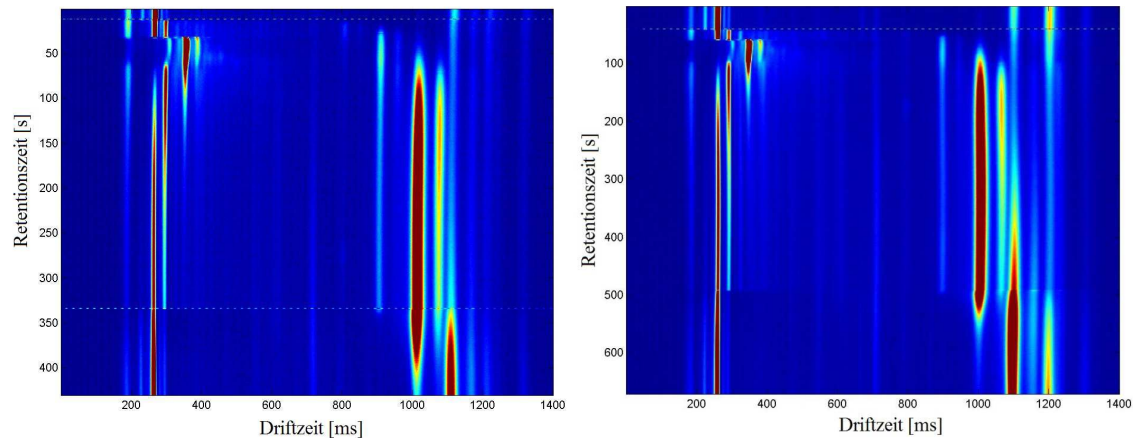


Abbildung 39: Mit der provisorisch aufgebauten GC-IMS-Kopplung aufgenommene Spektrogramme eines HEYM-Röhrchens. Links: Temperatur der GC-Säule beträgt 80 °C. Rechts: Temperatur der GC-Säule beträgt 100 °C.

Auch zwischen diesen beiden Spektrogrammen sind rein optisch Unterschiede zu erkennen. Für die Analyse der Spektrogramme werden in Tabelle 18 fünf Peaks präsentiert und genauer beschrieben.

Tabelle 18: Fünf ausgewählte Peaks der HEYM-Röhrchen-Spektrogramme der provisorischen GC-IMS-Kopplung im isothermen GC-Modus (siehe Abbildung 39)

| | HEYM-Röhrchen GC-Säule 80 °C | HEYM-Röhrchen GC-Säule 100 °C |
|--------|---|--|
| Peak 1 | RT: 15 s, DZ: 191 ms I: 8,63 V | RT: 44 s, DZ: 185 ms I: 5,927 V |
| Peak 2 | RT: 41 s, DZ: 357 ms I: 49,97 V | RT: 65 s, DZ: 350 ms I: 53,19 V |
| Peak 3 | RT: 57 s, DZ: 911 ms I: 7,214 V | RT: 78 s, DZ: 900 ms I: 5,127 V |
| Peak 4 | RT: 249 s, DZ: 1016 ms I: 31,43 V | RT: 290 s, DZ: 1008 ms I: 28,22 V |
| Peak 5 | RT: 333 s, DZ: 1112 ms I: 6,152 V | RT: 491 s, DZ: 1102 ms I: 15,19 V |

Zunächst wird Peak 1 betrachtet, der in beiden Spektrogrammen eine ähnliche Driftzeit aufweist. Seine Intensität unterscheidet sich jedoch vom linken zum rechten Spektrogramm. Auffällig ist, dass sich Peak 1 in beiden Spektrogrammen nach unterschiedlichen Retentionszeiten ausbildet. Peak 2 bildet sich im linken Spektrogramm (80 °C) der Abbildung 39 nach einer Retentionszeit von 41 s aus, im Spektrogramm der GC-Säulentemperatur von 100 °C nach einer Retentionszeit von 65 s. Die Driftzeit des Peaks ist in beiden Spektrogrammen mit 357 ms (80 °C) und 350 ms (100 °C) ähnlich. Die Intensitäten sind mit 49,91 V und 53,19 V unterschiedlich, sie besitzen dennoch eine Größenordnung. Ein ähnliches Verhalten weisen auch Peak 3 und 4 auf. Peak 3 und 4 sind, wie Peak 2 auch, in Richtung der Retentionszeit verschoben. Dies trifft auch auf Peak 5 zu. Dieser bildet sich im linken Spektrogramm (80 °C) der Abbildung 39 bei einer Retentionszeit von 333 s, im rechten Spektrogramm (100 °C) hingegen bei einer Retentionszeit von 491 s aus. Seine Driftzeiten ähneln sich mit Werten von 1112 ms (80 °C) und 1102 ms (100 °C). Allerdings unterscheiden sich die Intensitäten stark.

Abbildung 40 zeigt die DMS-Spektrogramme, bei deren Aufnahme die GC-Säule jeweils isotherm auf 80 °C bzw. 100 °C beheizt wurde.

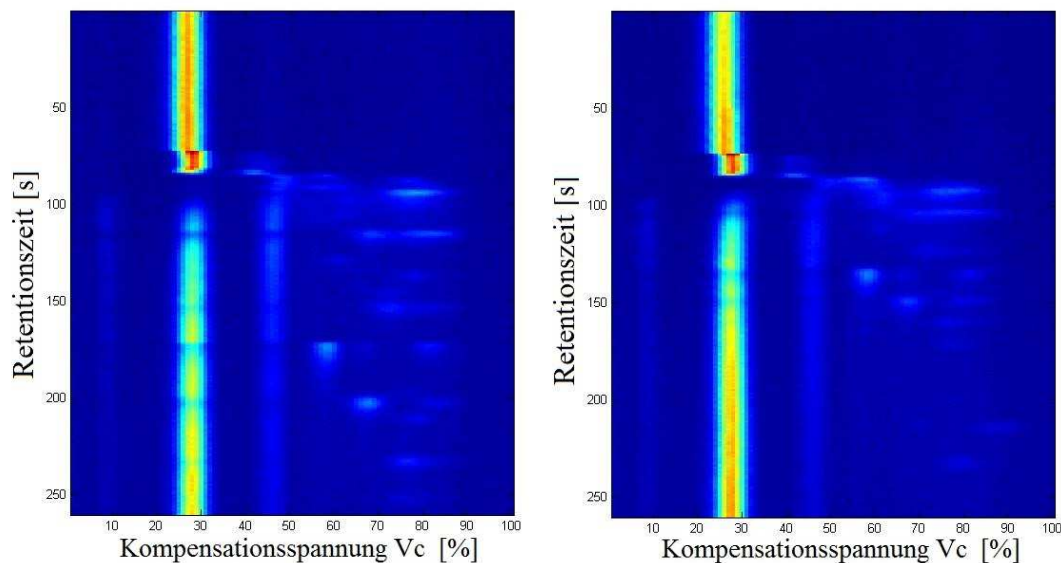


Abbildung 40: Mit dem microAnalyzer™ aufgenommene Spektrogramme eines HEYM-Röhrchens. Links: GC-Säule wird isotherm bei 80 °C beheizt. Rechts: GC-Säule wird isotherm bei 100 °C beheizt.

Die Peaks des linken Spektrogramms sind, wie in vorangegangen, unter gleichen Messbedingungen erzeugten Spektrogrammen auch, über das gesamte Spektrogramm verteilt. Im rechten Spektrogramm fällt auf, dass die Substanz-Peaks in negativer Richtung der Retentionszeit verschoben sind. Mit Hilfe der Auswertesoftware wurde im linken Spektrogramm der Abbildung 40 eine Anzahl von 42 Peaks ermittelt. Im DMS-Spektrogramm der GC-Säulentemperatur von 100 °C sind 45 Peaks erkennbar. Der Einfluss der Luftfeuchte ist in den Spektrogrammen in Abbildung 40 minimal. In Tabelle 19 wurden fünf Peaks dargestellt, deren Peak-Verhalten repräsentativ für das der restlichen Peaks steht.

Tabelle 19: Fünf ausgewählte Peaks der HEYM-Röhrchen-Spektrogramme des microAnalyzers™ im isothermen GC-Säulen-Modus (siehe Abbildung 40)

| | Peak 1 RT: 86,67 s Vc: -5,69 V | Peak 3 RT: 90,67 s Vc: -0,73 V | Peak 45 RT: 134 s Vc: -5,61 V | Peak 14 RT: 140 s Vc: -0,18 V | Peak 18 RT: 148,5 s Vc: -0,038 V |
|---------------------------------|---|---|--|--|---|
| HEYM- Röhrchen GC: 80 °C | 0,034 V | 0,075 V | 0 V | 0,023 V | 0,038 V |
| HEYM- Röhrchen GC: 100 °C | 0,054 V | 0,051 V | 0,062 V | 0,027 V | 0 V |

Peak 3 entspricht wegen seiner Lage dem Azeton-Peak. Peak 45 wird im rechten Spektrogramm mit einer Intensität von 0,062 V detektiert, während er in dem linken Spektrogramm nicht detektiert wird. Bei Betrachtung der einzelnen Peaks stellt sich heraus, dass sich der Peak 22 (RT: 175,5 s; Vc: -5,67 V), der in Tabelle 19 nicht beschrieben wird, simultan im linken Spektrogramm mit einer Intensität von 0,069 V ausbildet. Im rechten Spektrogramm wird er dagegen nicht detektiert. Peak 22 des Spektrogramms (80 °C) ist im Vergleich zu Peak 45 des Spektrogramms (100 °C) in positiver Richtung der Retentionszeit verschoben.

Peak 18 weist genau das entgegengesetzte Verhalten zu Peak 45 auf. Seine Intensität beträgt im Spektrogramm, das unter einer GC-Säulentemperatur von 80 °C aufgezeichnet wurde, 0,038 V. Im rechten Spektrogramm bildet sich Peak 18 nicht aus. Bei Betrachtung aller Peaks des rechten Spektrogramms kann Peak 8 ermittelt werden, der die gleichen Eigenschaften wie Peak 18 aufweist. Peak 8 bildet sich bei einer Retentionszeit von 108,5 s und einer Kompensationsspannung von -0,041 V mit einer Intensität von 0,037 V aus. Einige Peaks des rechten Spektrogramms erfahren im Vergleich zu den Peaks des linken Spektrogramms eine Verschiebung. Die Peaks 45, 22, 18 und 8 sind Beispiele für Verschiebungen von Peaks in Richtung der Retentionszeit, die aus den unterschiedlichen Temperaturen der GC-Säule resultieren. Solche Verschiebungen, wie sie bereits durch die Abbildung 33 dargestellt wurden, sind

auch in den Spektrogrammen des Headspace zahlreich zu beobachten. Gleiches gilt für die in Abbildung 34 dargestellten Peak-Muster.

Abbildung 41 präsentiert das Ergebnis der Analyse des Headspace des HEYM-Röhrchens durch das DMS, dessen GC-Säule mit einer Temperaturkurve beheizt wurde.

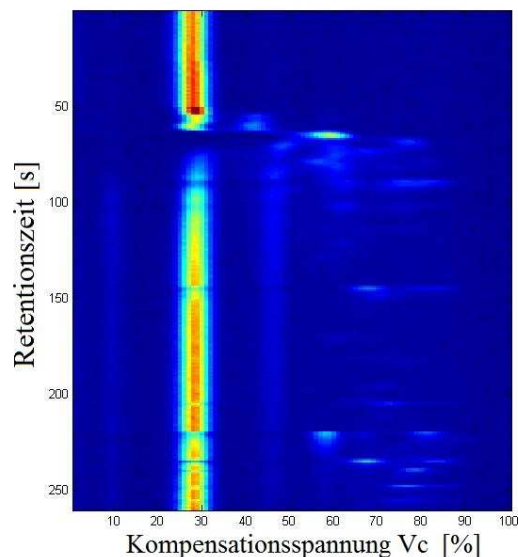


Abbildung 41: Mit dem microAnalyzer™ aufgenommenes Spektrogramm eines HEYM-Röhrchens. Die GC-Säule durchläuft eine Temperaturkurve.

Die DMS-Spektrogramme aus Abbildung 35 (Raumluft) und Abbildung 38 (Ausatemluft eines Probanden) unterscheiden sich rein optisch von dem HEYM-Röhrchen-Spektrogramm. Die Anzahl der Peaks ist im Spektrogramm des Headspace des HEYM-Röhrchens sehr viel größer als in den anderen Spektrogrammen der Raumluft und der Ausatemluft. Mit Hilfe der Klassifizierungssoftware konnten 40 eindeutige Peaks ermittelt werden (Raumluft: 7 Peaks; Ausatemluft: 23 Peaks). Die Anzahl der Peaks in den DMS-Spektrogrammen der Abbildung 40 und Abbildung 41 ist somit ähnlich hoch. Fünf dieser Substanz-Peaks werden in Tabelle 20 näher beschrieben.

Tabelle 20: Fünf ausgewählte Peaks der HEYM-Röhrchen-Spektrogramme des microAnalyzers™, dessen GC-Säule eine Temperaturkurve durchläuft (siehe Abbildung 41)

| | Peak 1 | Peak 24 | Peak 27 | Peak 36 | Peak 16 |
|---------------|---------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | RT: 63,67 s | RT: 77 s | RT: 78 s | RT: 180 s | RT: 222 s |
| | Vc: -0,73 V | Vc: -2,07 V | Vc: -0,05 V | Vc: -2,07 V | Vc: -5,61 V |
| HEYM-Röhrchen | 0,037 V | 0,015 V | 0,011 V | 0,007 V | 0,074 V |

Die Verschiebung des RIPs, die in allen DMS-Spektrogrammen der Ausatemluft im vorderen Retentionszeitbereich von 60 bis 70 s auftritt, ist in diesem Spektrogramm nicht vorhanden. Es ist erkennbar, dass Verwischungen von Peaks in Richtung der Retentionszeit im Spektrogramm auftreten, die durch verschiedene, stark ausgeprägte Substanz-Peaks erzeugt werden. Bei gleich bleibender Kompensationsspannung, aber fortschreitender Retentionszeit, nimmt die Intensität der Peaks ab. Trotzdem werden diese registriert. Durch die Vielzahl solcher aneinander gereihten Peaks entsteht ein zum RIP paralleler Balken.

Peak 1 bildet sich im Spektrogramm bei einer Retentionszeit von 63,67 s und einer Kompensationsspannung von -0,73 V aus und entspricht dem Peak 3 der DMS-Spektrogramme der Abbildung 40. Bei Analyse der Lage des Peaks 1 wird ersichtlich, dass es sich um den auch in der Ausatemluft des Probanden vorkommenden Azeton-Peak handelt. Innerhalb des DMS-Spektrogramms des HEYM-Röhrchens ist Peak 1 geringer ausgeprägt, als im Spektrogramm der Ausatemluft (siehe Abbildung 38).

Peak 24 erreicht eine Intensität von 0,015 V. Peak 36 ist ein Beispiel für die Verwischungen, die in den DMS-Spektrogrammen des HEYM-Röhrchens feststellbar sind. Er besitzt die gleiche Kompensationsspannung wie Peak 24, in der Retentionszeit ist er aber verschoben. Seine Intensität beträgt lediglich 0,007 V und liegt damit nur knapp über dem Hintergrundrauschen. Dieses Verhalten war bei weiteren Peaks dieser Analyse zu beobachten. Diese fünf in Tabelle 20 beschriebenen Peaks sind sehr unterschiedlich. Die restlichen 35 Peaks dieses Spektrogramms zeigen ähnliche Verhaltensweisen.

4.3 Untersuchungen von Proben mit Hilfe der DMS und des GC-IMS der Firma STEP

Folgend werden die Ergebnisse zu dem in Abschnitt 3.4.1.3 erläuterten Versuch präsentiert.

4.3.1 Analyse der Spektrogramme der Raumluf

In Abbildung 42 ist ein Beispiel der Spektrogramme der Raumluf dieser Versuchsreihe dargestellt, die mit dem DMS, dem microAnalyzer™, aufgenommen wurden.

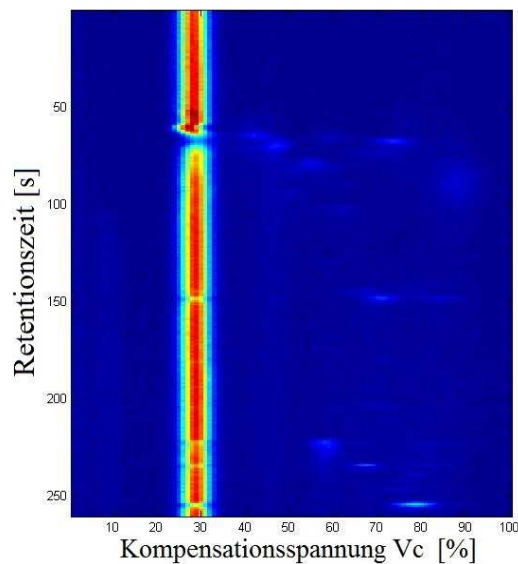


Abbildung 42: Mit dem microAnalyzer™ aufgenommenes Spektrogramm der Raumluf. Die GC-Säule durchläuft eine Temperaturkurve.

Mit Hilfe der Klassifizierungssoftware wurde die jeweilige Anzahl der detektierten Peaks für die einzelnen Spektrogramme ermittelt. In Raumluf 1 konnten mit Hilfe der Klassifizierungssoftware 21, in Raumluf 2 18 und in Raumluf 3 28 Peaks bestimmt werden. Für die weitere Auswertung wurden fünf repräsentative Peaks ausgewählt, die beispielhaft für die zahlreich vorhandenen Substanz-Peaks stehen. Sie werden in Tabelle 21 näher beschrieben.

Tabelle 21: Fünf ausgewählte Peaks der Raumluft-Spektrogramme des microAnalyzers™ (siehe Abbildung 42)

| | Peak 1 RT: 69 s Vc: -1,94 V | Peak 24 RT: 143 s Vc: -0,56 V | Peak 9 RT: 168,5 s Vc: -4,97 V | Peak 14 RT: 221,33 s Vc: -5,52 V | Peak 21 RT: 253,33 s Vc: -0,64 V |
|------------|--|--|---|---|---|
| Raumluft 1 | 0,182 V | 0 V | 0,007 V | 0,054 V | 0,04 V |
| Raumluft 2 | 0,038 V | 0,007 V | 0 V | 0,042 V | 0,079 V |
| Raumluft 3 | 0 V | 0 V | 0,012 V | 0,047 V | 0,061 V |

Peak 1 bildet sich bei einer Retentionszeit von 69 s und einer Kompensationsspannung von -1,94 V aus. Seine Intensität verändert sich von Spektrogramm zu Spektrogramm. Die Intensität erreicht in Raumluft 1 einen Wert von 0,182 V, in Raumluft 2 beträgt die Intensität des Peaks 0,038 V und in Raumluft 3 bildet sich der Peak gering aus. Dieses Verhalten kann bei sechs weiteren Peaks beobachtet werden. Gegenteilig verhält sich Peak 21. Seine Intensität erreicht den niedrigsten Wert in Raumluft 1 mit 0,04 V. In Raumluft 2 besitzt er eine Intensität von 0,079 V und in Raumluft 3 eine Peakhöhe von 0,061 V. Auch dieses Peak-Verhalten zeigt sich für sechs weitere Substanzen.

Peak 24 ist ein Peak der nur in Raumluft 2 mit einer geringen Intensität von 0,007 V auftritt. Seine Intensität liegt nur geringfügig über dem Schwellwert. In Raumluft 1 und Raumluft 3 wird der Peak nicht ausgebildet. Das umgekehrte Verhalten zeigt sich bei 18 weiteren Peaks, wie z. B. Peak 9. Der Peak wird in Raumluft 2 nicht detektiert. Seine Intensität erreicht in Raumluft 1 und Raumluft 3 Werte von 0,007 V und 0,012 V. Neun der 18 Substanzen, deren Peakintensität mit fortschreitender Tageszeit steigt, treten nur in Raumluft 3 auf. So auch der Azeton- bzw. Acetylgruppen-Peak (Peak 26; RT: 67 s, Vc: -0,81 s, I: 0,075 V), der nicht in der Tabelle aufgelistet ist. Peak 14 ist ein Beispiel für eine Substanz, deren Konzentration während beider Versuchstage annähernd unverändert blieb. In Raumluft 2 und 3, den Spektrogrammen eines Versuchstages, weist der Peak 14 nahezu gleiche Intensitäten auf. Die Intensität des Peaks ist in Raumluft 1 geringfügig höher als in Raumluft 2 und 3.

Den DMS-Spektrogrammen folgen die in Abbildung 43 die Raumluft-Spektrogramme des GC-IMS-Prototypen der Firma STEP.

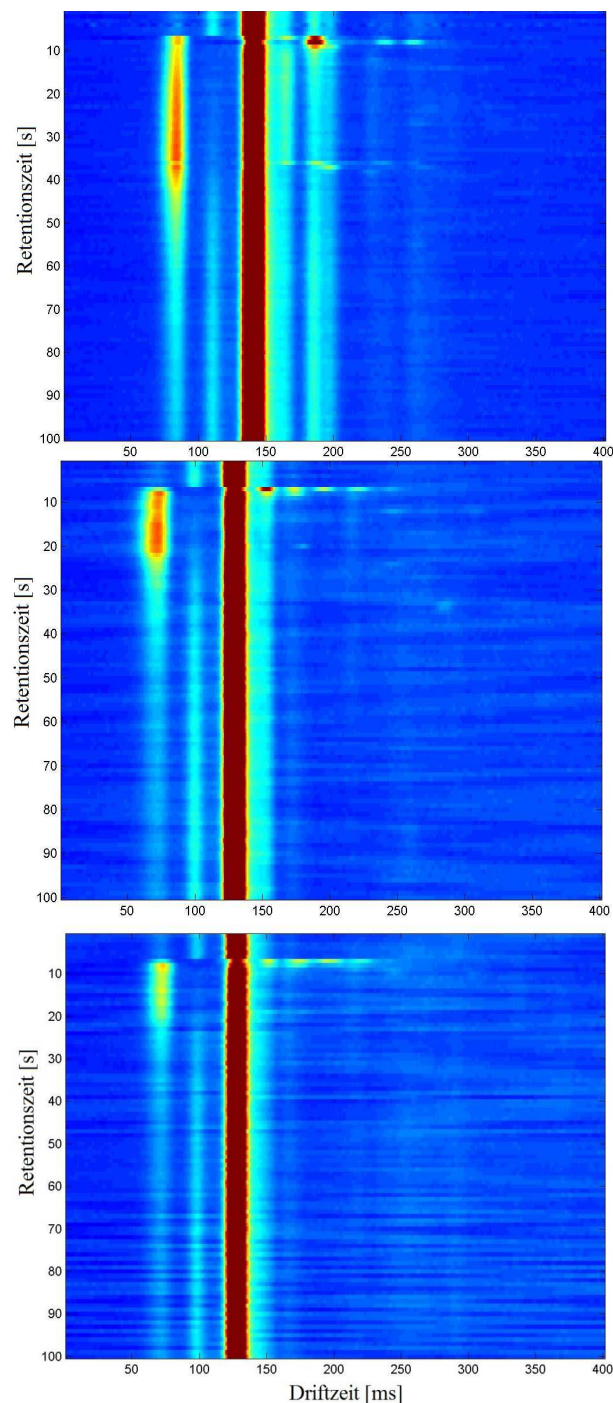


Abbildung 43: Mit dem GC-IMS-Prototypen aufgenommene Spektrogramme der Raumluft. Oben: Temperatur der GC-Säule beträgt 40 °C. Mitte: Temperatur der GC-Säule beträgt 80 °C. Unten: Temperatur der GC-Säule beträgt 100 °C.

Zwischen den GC-IMS-Spektrogrammen der Abbildung 43 sind bereits auf den ersten Blick optische Unterschiede zu erkennen. Die Spektrogramme der beiden Spektrometer sind nur wenig miteinander vergleichbar, da sich die Geräte in ihrem Aufbau, ihren Bauelementen und ihrer Detektionsmethode voneinander unterscheiden. Aus den

genannten Gründen werden die GC-IMS-Spektrogramme weniger mit den DMS-Spektrogrammen verglichen. Stattdessen erfolgt eine separate Betrachtung und Analyse.

Mit Hilfe der Klassifizierungssoftware wurde die Anzahl der Peaks in den einzelnen GC-IMS-Spektrogrammen ermittelt. In Raumluft 40 °C wurden 48 Peaks, in Raumluft 80 °C 9 Peaks und in Raumluft 100 °C 21 Substanz-Peaks bestimmt. Beim Vergleich der Peak-Anzahl der GC-IMS- und DMS-Spektrogramme der Raumluft wurden große Unterschiede festgestellt. Zur besseren Darstellung dieses Sachverhalts dient Tabelle 22.

Tabelle 22: Vergleich der Anzahl der Peaks in den Spektrogrammen beider Spektrometer

| DMS-Spektrogramm | Peak-Anzahl | GC-IMS-Spektrogramm | Peak-Anzahl |
|------------------|-------------|---------------------|-------------|
| Raumluft 1 | 21 | Raumluft 40 °C | 48 |
| Raumluft 2 | 18 | Raumluft 80 °C | 9 |
| Raumluft 3 | 28 | Raumluft 100 °C | 21 |

Auffällig ist die Abweichung der ermittelten Anzahl der Peaks in Raumluft 40 °C und Raumluft 1. Diese ist in Raumluft 40 °C mehr als doppelt so groß als in Raumluft 1. Raumluft 80 °C (GC-IMS) und Raumluft 2 (DMS) weisen die geringsten Anzahlen an Peaks auf. In den Spektrogrammen Raumluft 100 °C (GC-IMS) und Raumluft 3 (DMS) werden voneinander abweichende Anzahlen an Peaks ermittelt.

Für die Auswertung der GC-IMS-Spektrogramme werden fünf mit Hilfe der Klassifizierungssoftware ermittelte Peaks in Tabelle 23 genauer betrachtet, die als Beispiele fungieren sollen.

Tabelle 23: Fünf ausgewählte Peaks der Raumluf-Spektrogramme des GC-IMS-Prototypen (siehe Abbildung 43)

| | Peak 1 RT: 6,33 s Vc: -12,42 V | Peak 2 RT: 10,25 s Vc: -10,31 V | Peak 7 RT: 26 s Vc: -6,17 V | Peak 16 RT: 42,5 s Vc: -6,81 V | Peak 9 RT: 89,67 s Vc: -6,75 V |
|-------------------|---|--|--|---|---|
| Raumluf 40 °C | 1,446 V | 0 V | 0,105 V | 0,098 V | 0,101 V |
| Raumluf 80 °C | 0,28 V | 0,241 V | 0,079 V | 0 V | 0,076 V |
| Raumluf 100 °C | 0,341 V | 0,262 V | 0 V | 0,098 V | 0,087 V |

Peak 1 ist der erste in Tabelle 23 beschriebene Peak. Seine Intensität verändert sich innerhalb der drei GC-IMS-Spektrogramme. Während seine Intensität in Raumluf 80 °C und in Raumluf 100 °C ähnlich hohe Werte annimmt, erreicht diese in Raumluf 40 °C einen Wert von 1,446 V. Dieser Peak erzeugt im weiteren Verlauf des Spektrogramms Raumluf 40 °C eine starke Verunreinigung, die in Form eines zum RIP paralleln Balkens in oberen Spektrogramm der Abbildung 43 dargestellt wird. Gegenteilig dazu verhält sich Peak 2. In Raumluf 40 °C bildet sich dieser Peak nicht aus. In den anderen GC-IMS-Spektrogrammen werden ähnliche Intensitäten des Peaks erreicht. Stattdessen bildet sich in Raumluf 40 °C bei einer Retentionszeit von 4,5 s und einer Kompensationsspannung von -8,5 V Peak 11 (nicht in Tabelle 23 beschrieben) mit einer Intensität von 0,232 V aus. Ähnlich verhalten sich Peak 7 und Peak 56, der nicht in Tabelle 23 beschrieben wird. Peak 7 erreicht in Raumluf 40 °C eine Intensität von 0,105 V und in Raumluf 80 °C eine Intensität von 0,079 V. In Raumluf 100 °C wird der Peak nicht ausgebildet, dafür aber Peak 56 (RT:67,33 s; Vc: -7,25 V). Seine Intensität beträgt 0,089 V. Die Intensitäten von Peak 56 und Peak 7 sind ähnlich. Gleiches ist zwischen Peak 16 und Peak 8 (RT: 40 s, Vc: -4,5 V, I: 0,102 V) zu beobachten. Die Intensitäten des Peaks 9 weisen in den einzelnen Spektrogrammen zwar geringfügige Unterschiede auf, liegen aber in einer Größenordnung.

4.3.2 Analyse der Spektrogramme der Ausatemluft

Abbildung 44 zeigt das Ergebnis der Analyse der Ausatemluft eines Probanden, das mit dem microAnalyzer™ erstellt wurde.

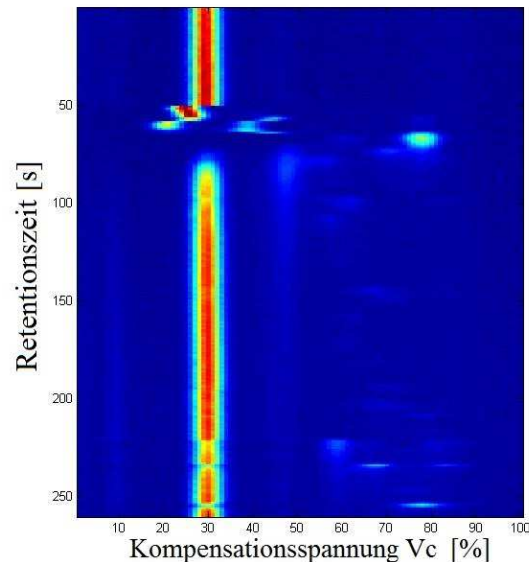


Abbildung 44: Mit dem microAnalyzer™ aufgenommenes Spektrogramm der Ausatemluft eines Probanden. Die GC-Säule durchläuft eine Temperaturkurve.

Die Spektrogramme der Ausatemluft sollten sich nur geringfügig voneinander unterscheiden, da die Messungen zu ähnlichen Tageszeiten durchgeführt wurden. Für die genauere Analyse der Spektrogramme wurde die Anzahl der in den Spektrogrammen ausgebildeten Peaks ermittelt. Durch die Klassifizierungssoftware wurden in Ausatemluft 1 16, in Ausatemluft 2 18 und in Ausatemluft 3 20 Peaks ermittelt. Bei genauer Betrachtung der einzelnen Peaks ergibt sich, dass sich in Ausatemluft 2 zwei und in Ausatemluft 3 vier Substanz-Peaks ausbilden, die mit jeweils 0,007 V sehr geringe Intensitäten erreichen. Auch in Ausatemluft 1 tritt ein solcher Substanz-Peak auf. Alle diese Peaks liegen nur geringfügig über dem Untergrundrauschen.

Für die Auswertung der DMS-Spektrogramme werden in Tabelle 24 fünf Peaks charakterisiert. Sie dienen als Beispiele für die anderen Substanz-Peaks.

Tabelle 24: Fünf ausgewählte Peaks der Ausatemluft-Spektrogramme eines Probanden des microAnalyzers™ (siehe Abbildung 44)

| | Peak 1 | Peak 5 | Peak 8 | Peak 11 | Peak 14 |
|---------------|---------------|---------------|---------------|----------------|----------------|
| | RT: 61,17 s | RT: 97,67 s | RT: 197,17 s | RT: 228,6 s | RT: 237,67 s |
| | Vc: -0,64 V | Vc: -4,77 V | Vc: -2,58 V | Vc: -3,43 V | Vc: -0,22 V |
| Ausatemluft 1 | 0,148 V | 0,024 V | 0,014 V | 0,062 V | 0,012 V |
| Ausatemluft 2 | 0,157 V | 0,029 V | 0,014 V | 0,061 V | 0,019 V |
| Ausatemluft 3 | 0,19 V | 0,028 V | 0,014 V | 0,053 V | 0,093 V |

Peak 1 bildet sich bei einer Retentionszeit von 61,17 s und einer Kompensationsspannung von -0,64 V aus. Dieser Peak, der Azeton- bzw. Acetylgruppen-Peak, wurde ebenfalls bei den Messungen der Ausatemluft des vorangegangenen Kapitels detektiert (siehe 5.2.2). Die Intensität des Peaks verändert sich von Spektrogramm zu Spektrogramm nur geringfügig. Ähnlich verhält sich Peak 14.

Das gegenteilige Verhalten zeigt sich bei Peak 11. Dieser weist in Ausatemluft 1 eine Intensität von 0,062 V auf. Eine ähnliche Höhe erreicht Peak 11 in Ausatemluft 2 mit 0,061 V. In Ausatemluft 3 sinkt die Intensität des Peaks auf 0,053 V ab. Die Veränderung der Intensität ist gering. Ein häufig zu beobachtendes Peakverhalten ist das der Peaks 5 und 8. Die Intensitäten dieser Peaks ähneln sich stark bzw. sind in den Spektrogrammen identisch.

In Abbildung 45 sind folgend die drei GC-IMS-Spektrogramme der Analyse der Ausatemluft dargestellt.

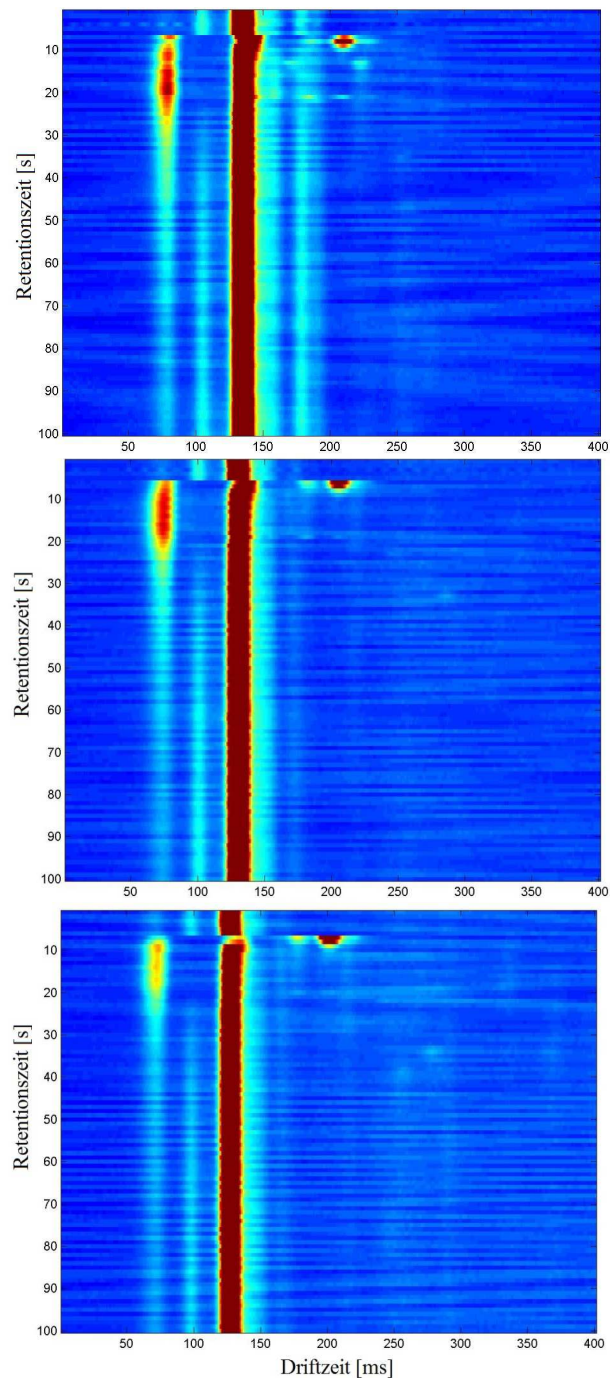


Abbildung 45: Mit dem GC-IMS-Prototypen aufgenommene Spektrogramme der Ausatemluft. Oben: Temperatur der GC-Säule beträgt 40 °C. Mitte: Temperatur der GC-Säule beträgt 80 °C. Unten: Temperatur der GC-Säule beträgt 100 °C gewählt. Auf der x-Achse wird jeweils die Driftzeit in ms aufgetragen.

Auch diese drei GC-IMS-Spektrogrammen unterscheiden sich optisch voneinander. Durch die Klassifizierungssoftware wurde die Anzahl der Peaks in den GC-IMS-Spektrogrammen ermittelt. In Tabelle 25 werden die ermittelten Anzahlen der Peaks der GC-IMS-Spektrogrammen und denen der DMS-Spektrogramme verglichen.

Tabelle 25: Vergleich der Anzahl der Peaks in den Spektrogrammen beider Geräte

| GC-IMS-Spektrogramm | Peak-Anzahl | DMS-Spektrogramm | Peak-Anzahl |
|---------------------|-------------|------------------|-------------|
| Ausatempluft 40 °C | 45 | Ausatempluft 1 | 16 |
| Ausatempluft 80 °C | 16 | Ausatempluft 2 | 18 |
| Ausatempluft 100 °C | 17 | Ausatempluft 3 | 20 |

Für die Auswertung der Spektrogramme werden in Tabelle 26 fünf Peaks genauer charakterisiert.

Tabelle 26: Fünf ausgewählte Peaks der Ausatempluft-Spektrogramme eines Probanden des GC-IMS-Prototypen (siehe Abbildung 45)

| | Peak 1 RT: 5,5 s Vc: -13,31 V | Peak 3 RT: 6 s Vc: -11,33 V | Peak 4 RT: 16 s Vc: -10,25 V | Peak 6 RT: 74,33 s Vc: -5,58 V | Peak 20 RT: 75,75 s Vc: -7,25 V |
|------------------------|--|--|---|---|--|
| Ausatempluft 40 °C | 0,357 V | 1,556 V | 0,329 V | 0,095 V | 0,105 V |
| Ausatempluft 80 °C | 0,362 V | 1,627 V | 0,088 V | 0 V | 0,07 V |
| Ausatempluft 100 °C | 0,44 V | 1,986 V | 0,119 V | 0 V | 0,076 V |

Der Luftfeuchte-Peak, der sich links neben dem RIP ausbildet, ist in den Spektrogrammen der Ausatempluft (Abbildung 45), wie erwartet, deutlich stärker ausgeprägt, als es in den Spektrogrammen der Raumluft der Fall ist.

Der erste in Tabelle 26 beschriebene Peak ist Peak 1. Die Intensität des Peaks ist innerhalb der drei GC-IMS-Spektrogramme minimal unterschiedlich. Ein ähnliches Verhalten weist Peak 3 auf. Im Vergleich zu Peak 1 (Azeton- bzw. Acetylgruppen-Peak) der DMS-Spektrogramme der Ausatempluft zeigen sich Gemeinsamkeiten zwischen Peak 3 und Peak 1 (DMS). Peak 3 (GC-IMS) und Peak 1 (DMS) können bezüglich ihrer exakten Lage (RT und Vc) nicht verglichen werden. Zur besseren Darstellung erfolgt die Gegenüberstellung in Tabellenform (Tabelle 27).

Tabelle 27: Vergleich Peak 3 der GC-IMS-Spektrogramme und Peak 1 der DMS-Spektrogramme

| GC-IMS-Spektrogramm | Peak 3 | DMS-Spektrogramm | Peak 1 |
|---------------------|---------|------------------|---------|
| Ausatempluft 40 °C | 1,556 V | Ausatempluft 1 | 0,148 V |
| Ausatempluft 80 °C | 1,627 V | Ausatempluft 2 | 0,157 V |
| Ausatempluft 100 °C | 1,986 V | Ausatempluft 3 | 0,19 V |

Die Werte der Intensitäten des Peaks 3 sind wesentlich höher. Der niedrigste Intensitätswert des Peaks 3 wird im Spektrogramm Ausatempluft 40 °C erreicht. In Ausatempluft 1 ist ebenfalls der niedrigste Intensitätswert des Peaks 1 messbar. Der Intensitätswert des Peaks 3 nimmt von Ausatempluft 80 °C zu Ausatempluft 100 °C zu. Das gleiche Verhalten zeigt Peak 1 der DMS-Spektrogramme der Ausatempluft.

Die Intensität des Peaks 4 der Tabelle 26 verändert sich innerhalb der GC-IMS-Spektrogramme. Ein ähnliches Verhalten weist Peak 20. Peak 6 erreicht in Ausatempluft 40 °C eine Intensität von 0,095 V. In Ausatempluft 80 °C und 100 °C wird dieser Peak nicht ausgebildet, stattdessen wird Peak 48 (RT: 34 s; Vc: -4,92 V), der nicht in Tabelle 26 beschrieben wird, in diesen beiden GC-IMS-Spektrogrammen detektiert. Die Intensität des Peak 48 in Ausatempluft 80 °C beträgt 0,013 V, in Ausatempluft 100 °C 0,131 V.

4.4 Messung des Headspace von mit Mykobakterien beimpften Nährböden mittels DMS und GC-IMS

4.4.1 DMS-Spektrogramme

Abbildung 46 zeigt die vier DMS-Spektrogramme, die mit dem microAnalyzer™ für diese Versuchsreihe erzeugt wurden.

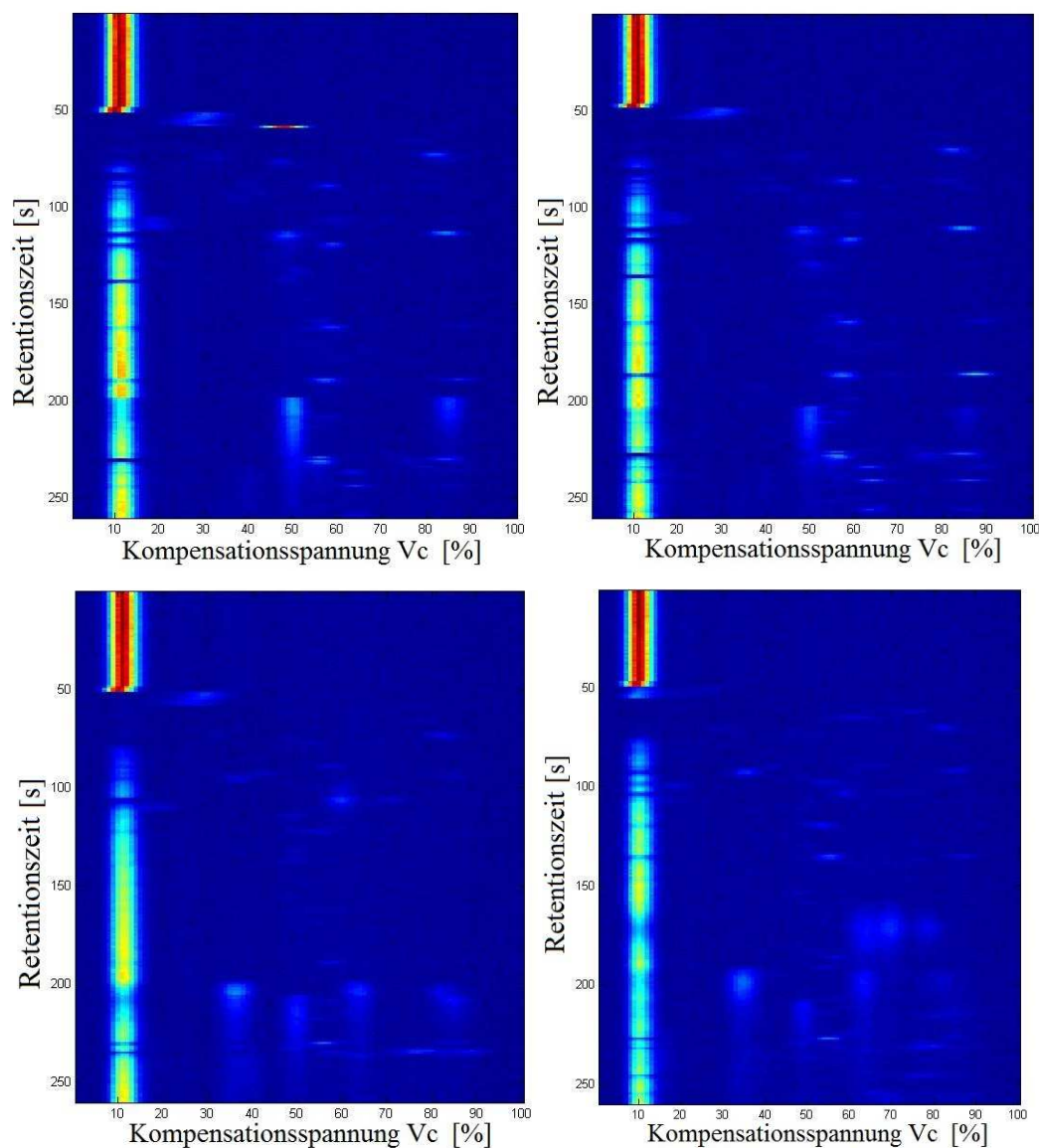


Abbildung 46: DMS-Spektrogramme der Versuchsreihe. Links oben: Nährboden nach 2 Wochen. Rechts oben: Nährboden nach 4 Wochen. Links unten: Bakterienkultur nach 2 Wochen. Rechts unten: Bakterienkultur nach 4 Wochen.

Die Spektrogramme der Nährböden der Abbildung 46 beinhalten eine Vielzahl an Peaks. Auffällig sind einige Substanz-Peaks, die in dem Spektrogramm des Nährbodenalters von vier Wochen geringer ausgebildet werden, als in dem Spektrogramm des zwei Wochen alten Nährbodens. Andererseits bilden sich einige Peaks verstärkt nach vierwöchiger Lagerung des Nährbodens im Inkubator bei 37 °C aus.

Die Spektrogramme des Headspace der mit Bakterienkultur beimpften HEYM-Röhrchen weisen im Vergleich zu den Spektrogrammen der unbeimpften Nährmedien weisen optische Unterschiede auf. Die Intensitäten einiger Peaks nehmen ab, die anderer Peaks hingegen nehmen zu.

Um die ersten optischen Eindrücke untersuchen zu können, wurde mit Hilfe der Klassifizierungssoftware die Anzahl an Peaks in den jeweiligen Spektrogrammgruppen ermittelt. In Tabelle 28 werden die ermittelten Anzahlen der Peaks gegenübergestellt.

Tabelle 28: Anzahl der Peaks in den Spektrogrammgruppen

| Spektrogrammgruppe | Anzahl der Peaks |
|--------------------|------------------|
| Nährboden 2 W | 42 |
| Nährboden 4 W | 49 |
| Bakterien 2 W | 43 |
| Bakterien 4 W | 54 |

Für die weitere Auswertung der Spektrogramme werden vier Peaks mit Hilfe von Boxplots näher beschrieben. Diese Peaks fungieren als Beispiele für weitere in den Spektrogrammen enthaltene Peaks. Die Boxplot-Darstellungen wurden mit Hilfe der Software SPSS erzeugt. Die Boxplots dienen dem besseren Verständnis des Verhaltens eines Peaks.

Zu Beginn wird Peak 43 (RT: 74,67 s; Vc: -7,2 V) mit Hilfe des Boxplots der Abbildung 47 näher betrachtet.

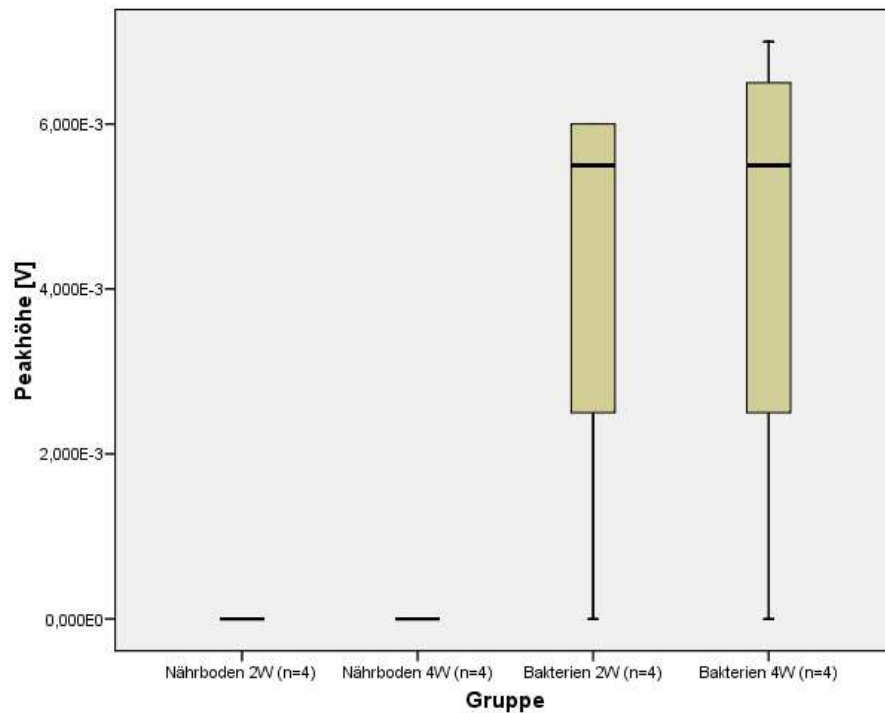


Abbildung 47: Boxplot-Darstellung der Intensitätsänderungen des Peaks 43

In Abbildung 47 ist erkennbar, dass sich der Peak nur in den Spektrogrammgruppen Bakterien 2 W und Bakterien 4 W ausbildet. In Nährboden 2 W und Nährboden 4 W ist er nicht vorhanden. In der Boxplot-Darstellung ist ersichtlich, dass der Quartilsabstand des Boxplots von Bakterien 2 W sowie Bakterien 4 W sehr groß ist. Der Median für Bakterien 2 W und Bakterien 4 W bei 0,0055 V. Andere in den Spektrogrammen auftretende Peaks weisen ein ähnliches Verhalten auf.

Die Intensitäten des Peaks 31 (RT: 229,91 s; Vc: -6,08 V), dessen Boxplot-Darstellung in Abbildung 48 abgebildet ist, verhalten sich im Vergleich zu denen des Peaks 43 anders.

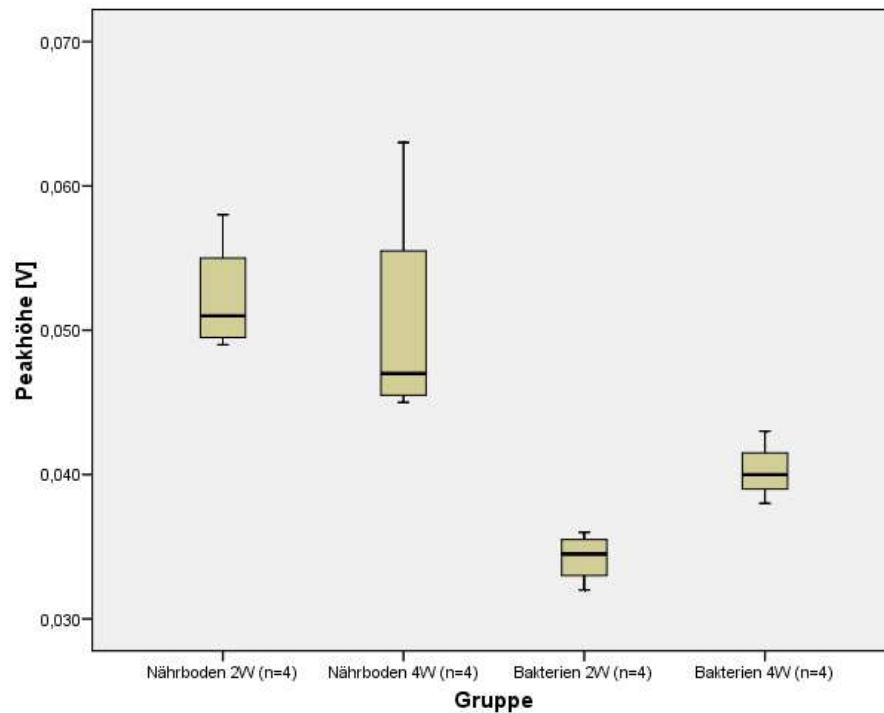


Abbildung 48: Boxplot-Darstellung der Intensitätsänderungen des Peaks 31

Abbildung 48 stellt die Veränderung der Intensitäten des Peaks in Form von Boxplots grafisch dar. Der mediane Intensitätswert dieses Peaks nimmt in den Nährboden-Spektrogrammen minimal ab. In Bakterien 2 W ist der mediane Wert der Intensität mit 0,035 V niedriger als in Nährboden 2 W. In Bakterien 4 W wiederum steigt dieser Wert auf 0,040 V an. Der Quartilsabstand der Boxplots des Peaks 31 ist klein. Das ist besonders in Bakterien 2 W und Bakterien 4 W der Fall. Ein ähnliches Verhalten weisen noch weitere Peaks der Spektrogramme auf.

Auch der durch die Klassifizierungssoftware ermittelte Peak 33 (RT: 235,25 s; Vc:4,33 V) wird mit Hilfe des in Abbildung 49 dargestellten Boxplots beschrieben.

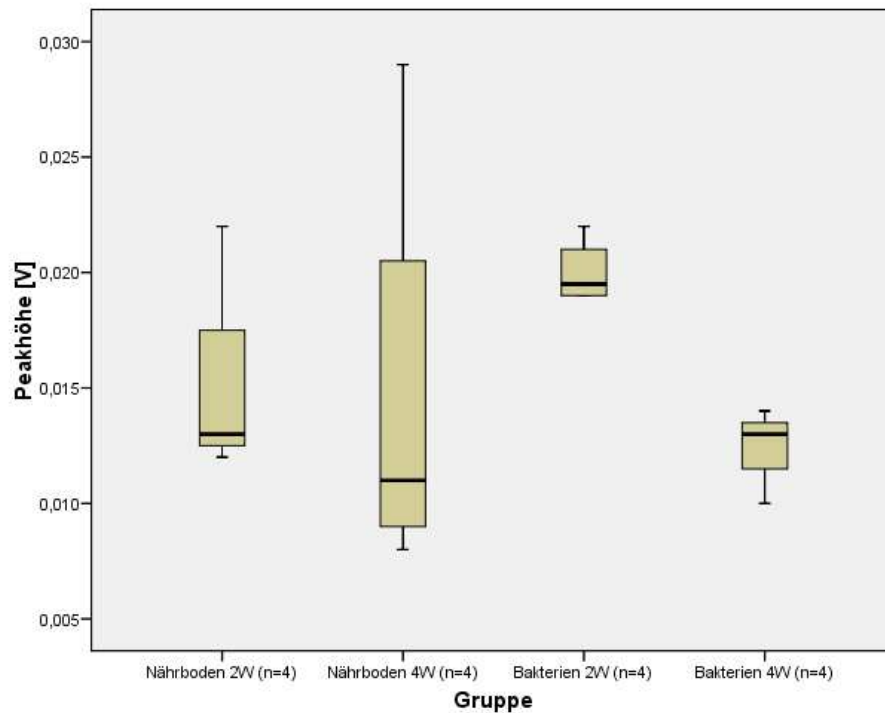


Abbildung 49: Boxplot-Darstellung der Intensitätsänderungen des Peaks 33

Der Median der Spektrogrammgruppe Nährboden 2 W nimmt einen Wert von 0,013 V an, der der Spektrogrammgruppe Nährboden 4 W einen Wert von 0,011 V. Für die Bakterien-Spektrogrammgruppen stellt sich der Sachverhalt anders dar. Die Mediane der Boxplots der beiden Spektrogrammgruppen nehmen Werte von 0,02 V (Bakterien 2 W) und 0,013 V (Bakterien 4 W) an. Im Vergleich zu Nährboden 2 W besitzt die Intensität des Peaks 33 in Bakterien 2 W einen höheren Wert. In Bakterien 4 W sinkt dieser Wert ab. Peak 33 verhält sich entgegengesetzt zu Peak 31.

Als Abschluss dieser Versuchsreihe wird Peak 42 (RT: 255,37 s; Vc. -4,04 V) in Abbildung 50 genauer betrachtet.

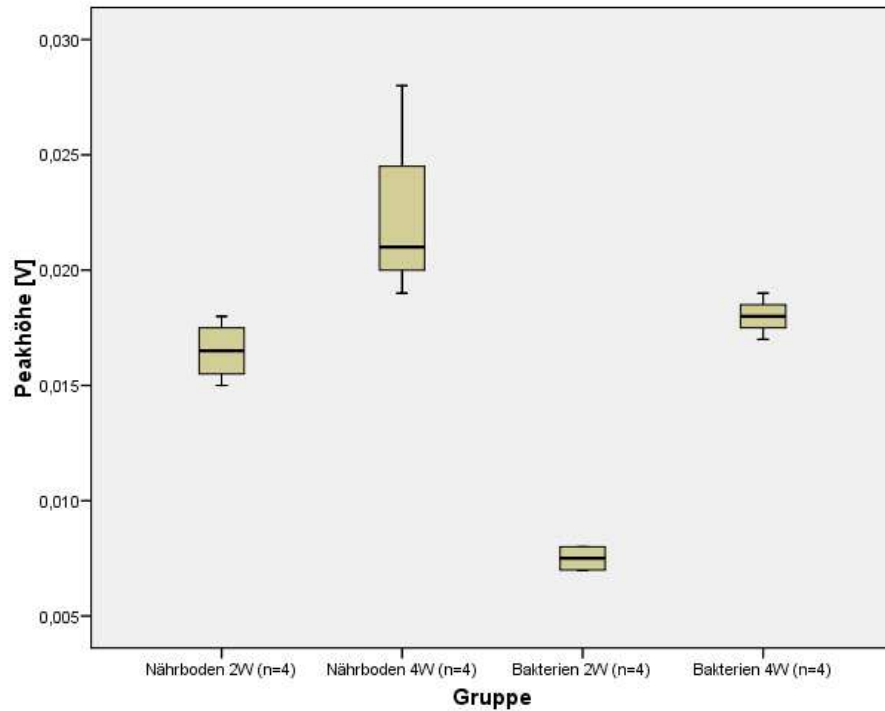


Abbildung 50: Boxplot-Darstellung der Intensitätsänderungen des Peaks 42

Die Intensität des Peaks steigt sowohl von Nährboden 2 W zu Nährboden 4 W als auch von Bakterien 2 W zu Bakterien 4 W an. Entsprechend Abbildung 50 ergeben sich für Nährboden 2 W und Nährboden 4 W mediane Werte von 0,0165 V und 0,0215 V. Der Median beträgt für Bakterien 2 W 0,0075 V und für Bakterien 4 W 0,0175 V. Dieses Verhalten ist auch bei weiteren Peaks zu beobachten.

4.4.2 GC-IMS-Spektrogramme

Abbildung 51 zeigt vier Spektrogramme, die mit Hilfe des GC-IMS-Prototypen innerhalb dieser Versuchsreihe erzeugt wurden.

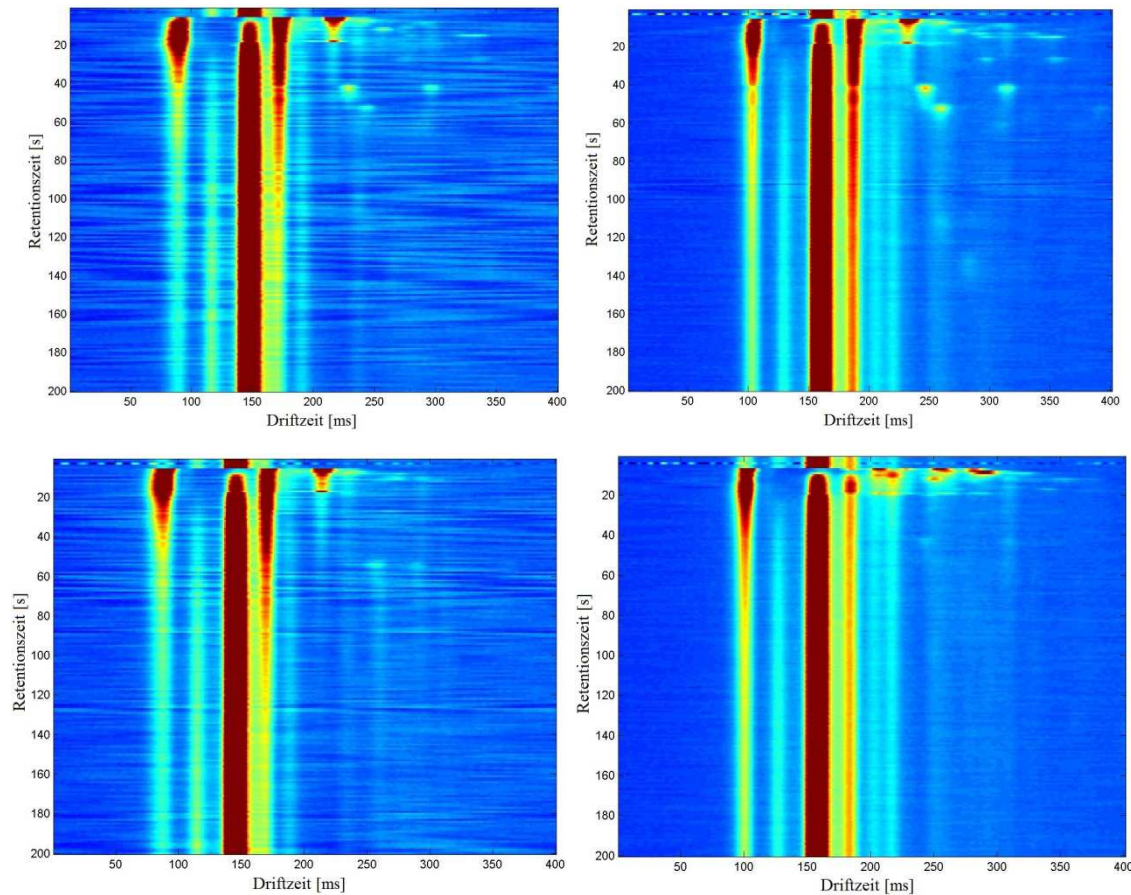


Abbildung 51: GC-IMS-Spektrogramme der Versuchsreihe. Links oben: Nährboden nach 2 Wochen. Rechts oben: Nährboden nach 4 Wochen. Links unten: Bakterienkultur nach 2 Wochen. Rechts unten: Bakterienkultur nach 4 Wochen.

Die GC-IMS-Spektrogramme des Headspace aus den unbeimpften HEYM-Röhrchen beinhalten eine Vielzahl an Peaks. Es ist erkennbar, dass einige Substanzen nach einer Inkubation von vier Wochen geringer ausgebildet werden, als es zwei Wochen früher der Fall war. Andere Peaks hingegen bilden sich nach vierwöchiger Lagerung im Inkubator bei 37 °C verstärkt aus. Desweiteren sind Unterschiede zwischen den Spektrogrammen der unbeimpften und den beimpften Nährmedien deutlich zu erkennen.

Im Vergleich der GC-IMS-Spektrogramme mit den in Abbildung 46 dargestellten DMS-Spektrogramme des microAnalyzers™ zeigen sich deutliche Unterschiede. Die Substanz-Peaks verteilen sich in den DMS-Spektrogrammen über den gesamten Retentionszeitbereich. Die Peaks sind den GC-IMS-Spektrogrammen nur im oberen Retentionszeitbereich erkennbar.

Tabelle 29 vergleicht die Anzahl der Peaks in den GC-IMS- mit der Anzahl der Peaks in den DMS-Spektrogrammgruppen.

Tabelle 29: Vergleich der Anzahl der Peaks in den Spektrogrammgruppen

| GC-IMS-Spektrogrammgruppe | Anzahl der Peaks | DMS-Spektrogrammgruppe | Anzahl der Peaks |
|---------------------------|------------------|------------------------|------------------|
| Nährboden 2 W | 43 | Nährboden 2 W | 42 |
| Nährboden 4 W | 83 | Nährboden 4 W | 49 |
| Bakterien 2 W | 37 | Bakterien 2 W | 43 |
| Bakterien 4 W | 86 | Bakterien 4 W | 54 |

Für die weitere Auswertung der Spektrogramme werden folgend vier der ermittelten Peaks, die beispielhaft die anderen in den Spektrogrammen enthaltenen Peaks präsentieren, mit Hilfe von Boxplots näher beschrieben. Zu Beginn wird Peak 1 (RT: 4,22 s; Vc. -13,17 V) in Abbildung 52 mit Hilfe eines Boxplots analysiert.

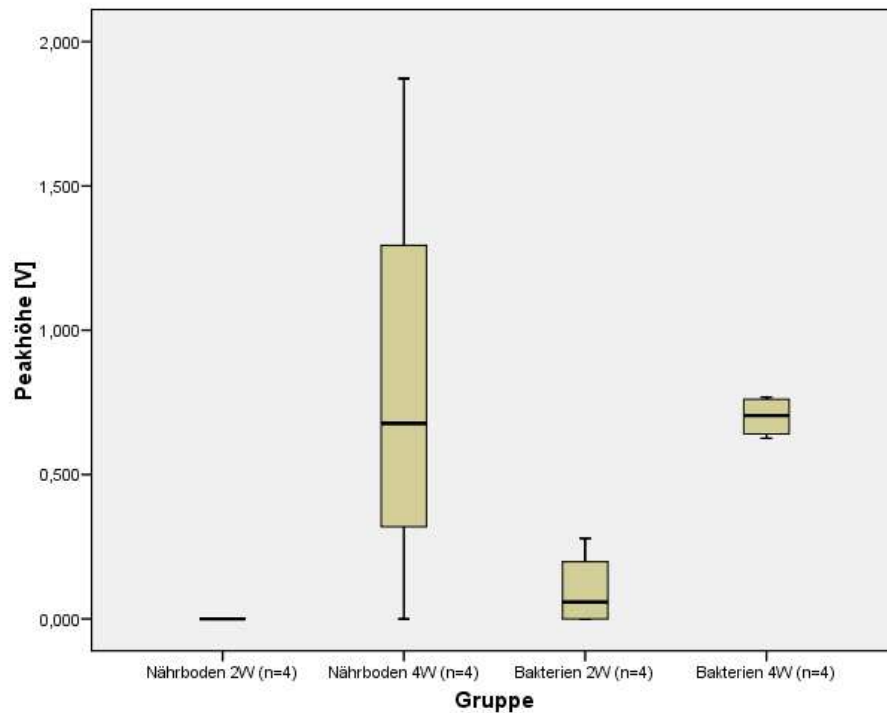


Abbildung 52: Boxplot-Darstellung der Intensitätsänderungen des Peaks 1

Die Intensität des Peaks steigt sowohl von Nährboden 2 W zu Nährboden 4 W als auch von Bakterien 2 W zu Bakterien 4 W an. In Abbildung 52 sind die Mediane für Nährboden 2 W und Nährboden 4 W Mediane mit 0 V und 0,6 V angegeben. Ein ähnliches Verhalten weist Peak 1 in Bakterien 2 W und Bakterien 4 W auf. Der Median beträgt gemäß Abbildung 52 für Bakterien 2 W 0,06 V und für Bakterien 4 W 0,75 V. In den GC-IMS-Spektrogrammen treten weitere Peaks auf, die sich ähnlich verhalten.

In Abbildung 53 folgt die Boxplot-Darstellung des Peaks 2 (RT: 5,4 s; Vc: -11,15 V) der GC-IMS-Spektrogramme.

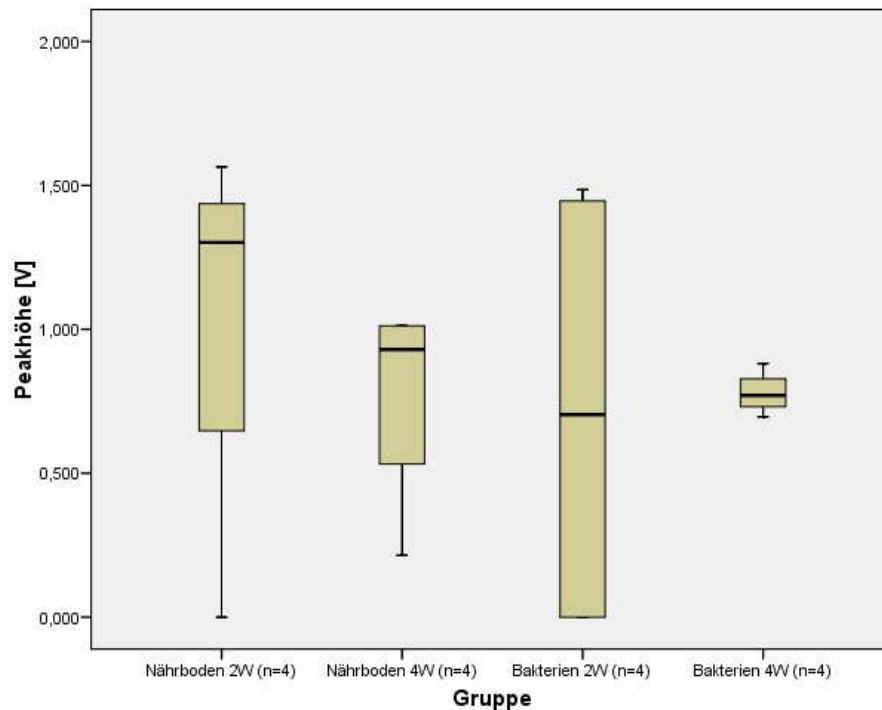


Abbildung 53: Boxplot-Darstellung der Intensitätsänderungen des Peaks 2

Für Nährboden 2 W kann ein Median von 1,35 V bestimmt werden. Nährboden 4 W erreicht einen medianen Wert von 0,9 V. Die Intensität des Peaks 2 nimmt von Nährboden 2 W zu Nährboden 4 W ab. Für die Spektrogrammgruppe Bakterien 2 W ergibt sich ein Median von 0,75 V. Dieser mediane Intensitätswert des Peaks 2 ist niedriger als in Nährboden 2 W. Der Median von Bakterien 4 W beträgt 0,8 V. Die Intensität steigt an. Bei Betrachtung der Boxplot-Darstellung des Peaks (Abbildung 53) bezüglich der Gruppen Bakterien 2 W und Bakterien 4 W wird ersichtlich, dass der Quartilsabstand der beiden Boxplots unterschiedlich ausgeprägt ist. Im Gegensatz dazu sieht das Boxplot zur Darstellung der Intensitäten des Peaks 2 innerhalb der Gruppe Bakterien 4 W anders aus. Der Quartilsabstand dieses Boxplots ist klein. Die Intensitätswerte liegen alle im Bereich des Medians von 0,8 V.

Die folgende Abbildung 54 dient der Beschreibung des Peak 12 (RT: 35,29 s; Vc: - 10,8 V) in den GC-IMS-Spektrogrammen der Versuchsreihe.

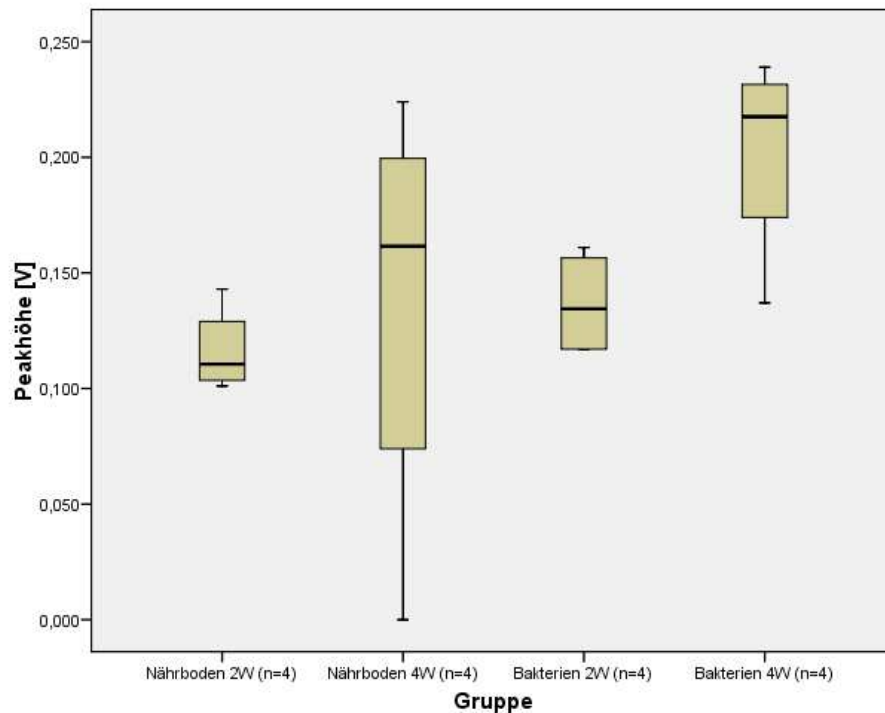


Abbildung 54: Boxplot-Darstellung der Intensitätsänderungen des Peaks 12

Peak 12 erreicht in Nährboden 2 W einen medianen Intensitätswert von 0,12 V. In Nährboden 4 W steigt dieser auf 0,16 V an. Die Intensität des Peaks ist in beiden Spektrogrammgruppen ähnlich hoch. In Bakterien 2 W und Bakterien 4 W erhöht sich der Intensitätswert. Peak 12 erreicht in Bakterien 2 W eine mediane Intensität von 0,14 V und in Bakterien 4 W einen Median von 0,225 V.

Der letzte Peak, der betrachtet werden soll, ist Peak 18 (RT:54,38 V; Vc: -7,08V). Mit Hilfe des in Abbildung 55 dargestellten Boxplots kann sein Verhalten innerhalb der Spektrogrammgruppen nachvollzogen werden.

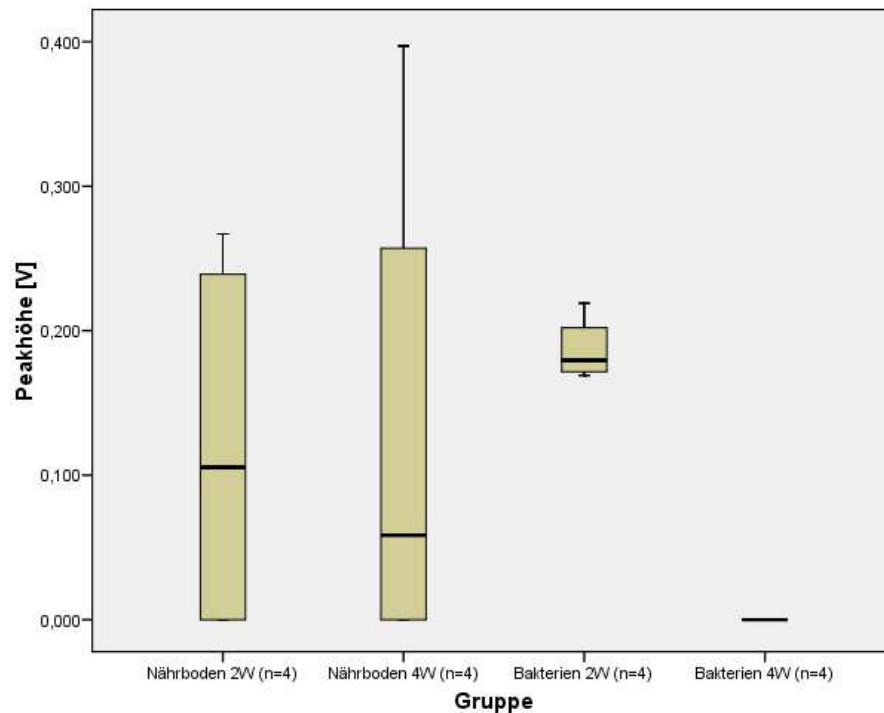


Abbildung 55: Boxplot-Darstellung der Intensitätsänderungen des Peaks 18

Die Intensität des Peaks 18 nimmt sowohl von Nährboden 2 W zu Nährboden 4 W als auch von Bakterien 2 W zu Bakterien 4 W ab. Der Median für die Spektrogrammgruppe Nährboden 2 W beträgt 0,11 V. In Nährboden 4 W erreicht dieser einen Wert von 0,06 V. Bei Betrachtung der dazugehörigen Boxplots (Abbildung 55) ist eine große Differenz der Intensitäten des Peaks 18 in den einzelnen Spektrogrammen der beiden Spektrogrammgruppen feststellbar. Der Quartilsabstand der beiden Boxplots ist sehr groß. In Bakterien 2 W beträgt der mediane Intensitätswert des Peak 18 0,19 V, während der Median in Bakterien 4 W einen Wert von 0 V annimmt. In Bakterien 4 W wird Peak 18 somit nicht registriert. Peak 18 weist in Bakterien 2 W eine höhere Intensität auf als in Nährboden 2 W.

5 Diskussion

Nachfolgend werden die in Kapitel 4 vorgestellten Ergebnisse analysiert und diskutiert.

5.1 Untersuchung der Spektrogramme des IMS, des provisorischen Aufbaus einer GC-IMS-Kopplung und des GC-IMS-Prototypen der Firma STEP

5.1.1 Spektrogramme der Raumluft

Zwischen den Raumluft-Spektrogrammen der unterschiedlichen Spektrometer treten, wie erwartet, große Unterschiede auf. Durch das IMS-Spektrogramm der Abbildung 29 wird ersichtlich, dass die Verwendung eines reinen IMS für Analyse so komplexer Stoffgemische, wie Raumluft nicht möglich ist. Die Substanzpeaks erstrecken sich über das gesamte Spektrogramm. Grund für dieses Peakverhalten ist das ständige Zuführen von Raumluft nach dem Öffnen des Ventils. Für jede Sekunde, die das Ventil geöffnet wird, wird ein Spektrogramm aufgezeichnet. Jedes dieser Spektrogramme ist somit eine „Momentaufnahme“ der Zusammensetzung der Raumluft. Die Zusammensetzung der Raumluft verändert innerhalb dieser kurzen Zeit nicht, was dazu führt, dass sich die Peaks über das gesamte Spektrogramm erstrecken. Da keine GC-Säule vorgeschaltet wird, werden die in der Raumluft befindlichen Substanzen nicht nach ihrer Retentionszeit getrennt, sondern nur nach ihrer Driftzeit. Alle Substanzen, die eine ähnliche Driftzeit aufweisen, werden durch nur einen Peak im IMS-Spektrogramm dargestellt. Die sich über das gesamte Spektrogramme erstreckenden Peaks können andere Substanzpeaks mit ähnlichen Driftzeiten überlagern, sodass diese nicht wahrgenommen werden können. Für die Detektion bekannter Stoffgemische reicht diese Eigenschaft aus. Für die Analyse unbekannter und komplexer Stoffgemische, wie Raum- und Ausatemluft, ist dieses Verhalten inakzeptabel, da eine best- und größtmögliche Trennung der Substanzen erreicht werden muss. Besonders auffällig bei den IMS-Messungen war, dass nach dem Schließen des Ventils starke

Verunreinigungen des IMS-Detektors auftreten. Einige Substanzen setzen sich in der IMS-Messzelle fest, sodass Folgemessungen stark beeinflusst werden. Aus diesem Grund ist ein Spülen bzw. Reinigen der Messzelle über einen längeren Zeitraum nach jeder Messung notwendig. Für den Einsatz in der Medizin ist dieser Sachverhalt nicht akzeptabel, da hier so häufig wie möglich und mit geringem Arbeitsaufwand gemessen werden muss.

Das IMS-Spektrogramm und das Spektrogramm der provisorischen GC-IMS-Kopplung sind sich ähnlich. Die Anzahl an Peaks in dem Spektrogramm der provisorischen GC-IMS-Kopplung ist niedriger als die im IMS-Spektrogramm der Abbildung 29. Grund dafür kann sein, dass die Zusammensetzung der Raumluft-Proben nicht identisch war. Die Messungen wurden an verschiedenen Tagen, zu verschiedenen Tageszeiten durchgeführt. Das Verhalten des Luftfeuchte-Peaks zeigt, dass der Einfluss der Luftfeuchte auf die GC-IMS-Spektrogramme anscheinend durch die GC-Säule minimiert wird. Für dieses Verhalten können aber auch Unterschiede der Raumluft an den Versuchstagen verantwortlich sein.

Einige Peaks dieses GC-IMS-Spektrogramms beweisen, dass die IMS-Messzelle anfällig für Verschmutzungen ist. Vor dem Öffnen des Einlassventils sind diese bereits sehr stark ausgeprägt, was darauf schließen lässt, dass die IMS-Messzelle bereits mit dieser Substanz verunreinigt war. Nach dem Schließen des Einlassventils bilden sich diese Peaks wieder so stark wie vor dem Öffnen des Einlassventils aus. Die IMS-Messzelle verschmutzenden Substanzen befinden sich in einer geringen Menge in der Raumluft, jedoch in großer Konzentration im internen Kreislauf der IMS-Messzelle. Das Spülen bzw. Reinigen der IMS-Messzelle ist auch bei diesem Provisorium zwingend notwendig.

In dem Spektrogramm der provisorischen GC-IMS-Kopplung ist die Funktionsweise der GC-Säule gut zu erkennen. Die Substanzen verlassen entsprechend ihrer Retentionszeiten die GC-Säule zu unterschiedlichen Zeitpunkten, und werden durch die IMS-Messzelle analysiert. Die Trennung der Substanzen ist im Vergleich zum IMS-Spektrogramm erfolgreicher. Die meisten Substanzen bilden sich allerdings auch hier ab ihrer jeweiligen Retentionszeit bis zum Schließen des Einlassventils aus. Der Grund für das Verhalten der Peaks ist, dass das Ventil des Einlass permanent geöffnet ist. Mit

einer definierten Probenmenge, beispielsweise mit Hilfe einer Probenschleife, kann diesem Effekt entgegengewirkt werden. Ein weiterer Grund für die über einen langen Zeitraum ausgeprägten Peaks kann sein, dass die GC-Säule isotherm beheizt wird und keine Temperaturkurve, wie beispielsweise die GC-Säule des microAnalyzers™, durchläuft. Die detektierten Substanzen wandern bevorzugt bei 80 °C durch die GC-Säule hin zur IMS-Messzelle. Andere Substanzen, die bei höheren Temperaturen bevorzugt durch die GC-Säule wandern, treten sehr viel später in den Spektrogrammen auf oder sie setzen sich in der GC-Säule fest. Sie durchqueren die GC-Säule nur dann, wenn ihre bevorzugte GC-Temperatur erreicht wird. Durch Anwendung einer Temperaturkurve kann die Trennung verbessert und das Spektrogramm zusätzlich verkürzt werden. Auch Verunreinigungen der IMS-Messzelle spielen in diesem Zusammenhang eine große Rolle.

Das Spektrogramm des GC-IMS-Prototypen unterscheidet sich sehr stark von den anderen beiden Spektrogrammen. Aufgrund der sehr kurzen (0,2 m) GC-Säule treten die Substanz-Peaks alle nach kurzen Retentionszeiten im Spektrogramm auf. Die zehn Peaks des Spektrogrammausschnitts sind sehr gut getrennt und treten nur über einen kurzen Zeitraum in dem gesamten Spektrogramm auf. Sie sind nicht so großflächig und über die ganze Messung ausgebildet, wie es in dem IMS-Spektrogramm und dem Spektrogramm der provisorischen GC-IMS-Kopplung zu sehen ist. Grund dafür ist die verbesserte Probennahme. Die Probenmenge wird in diesem Spektrometer definiert. Es fällt auf, dass der GC-IMS-Prototyp weniger anfällig für Verschmutzungen ist. Grund dafür ist die Begrenzung der Probenmenge und die kurze Länge der GC-Säule. Verbesserte interne Spül- und Filtervorgänge können ebenfalls zu derartigen Ergebnissen führen.

5.1.2 Spektrogramme der Ausatemluft

In dem IMS-Spektrogramm der Abbildung 30 ist zu sehen, dass sich das Spektrogramm während 30 s, in denen der Proband ausatmet, stark verschmiert bzw. verwischt darstellt. Ein Grund dafür kann die hohe Luftfeuchtigkeit der Ausatemluft sein. Durch das direkte Ausatmen in das IMS können aber auch geräteinterne Abläufe verändert werden, die zu derartigen Ergebnissen führen. Besonders auffallend in dem IMS-Spektrogramm ist, dass der Peak, der vor dem RIP bei 190 ms auftritt, sehr stark ausgebildet ist. Die Vermutung, dass es sich hierbei um den Luftfeuchte-Peak bzw. Wasserpeak handelt, wird dadurch bestätigt. Die Ausatemluft besitzt eine relative Luftfeuchtigkeit von 95 % sowie 2-3 % reinen Wasserdampf. Die starke Zunahme dieses Peaks spiegelt diesen Sachverhalt wider. Aufgrund der starken Verwischung durch den Einfluss der hohen relativen Luftfeuchtigkeit der Ausatemluft, dem Ausatemprozess an sich und der geringen Anzahl an Substanzpeaks ist eine Ausatemluftanalyse nicht möglich.

Das Spektrogramm dieser GC-IMS-Kopplung zeigt, dass durch Verwendung einer GC-Säule eine bessere Trennung der Substanzen anhand ihrer Retentionszeit möglich ist. Dennoch muss davon ausgegangen werden, dass einige Peaks durch mehrere Substanzen erzeugt werden, die durch die GC-Säule nicht eindeutig getrennt werden können. Ein weiteres Problem ist die isotherme Beheizung der GC-Säule. Die in dem Spektrogramm sichtbaren Substanzen wandern bevorzugt bei 80 °C durch die GC-Säule hin zur IMS-Messzelle. Andere Substanzen, die höhere Temperaturen benötigen, um die GC-Säule zu durchqueren, treten sehr viel später in den Spektrogrammen auf oder sie durchwandern die GC-Säule nicht und setzen sich fest. Durch Anwendung einer Temperaturkurve kann die Trennung verbessert und das Spektrogramm zusätzlich verkürzt werden. Dies gilt auch für den GC-IMS-Prototypen, da die GC-Säule auch in diesem Spektrometer isotherm beheizt wird.

Das Problem des Einflusses der relativen Luftfeuchtigkeit der Ausatemluft, wie es im IMS-Spektrogramm zu sehen war, tritt nicht mehr auf. Die Probe wird sowohl durch den Injektor, der auf 80 °C beheizt ist und den die Probe durchläuft, als auch durch die GC-Säule auf 80 °C erhitzt, sodass die Luftfeuchte sowie deren Einfluss auf die Spektrogramme minimiert werden.

Die Probennahme der Ausatemluft erwies sich jedoch als schwierig, da nicht nur die Ausatemluft an sich analysiert werden kann, sondern aufgrund des Aufbau immer gefilterte Luft nachgeführt werden muss, die wiederum ebenfalls analysiert wird. Einige Peaks nehmen mit zunehmender Retentionszeit ab, andere wiederum zu. Ein Grund dafür ist, dass ab der Messdauer bzw. der Retentionszeit von 240 s scheinbar nicht mehr die Ausatemluft, sondern die gefilterte Raumluft analysiert wird. Ein zusätzliches Problem durch das ständige Zuführen von Probe ist, dass sich einige Peaks ab dem Öffnen des Einlassventils bis zu dessen Schließen ausbilden. Dadurch werden womöglich andere Peaks überlagert und können nicht wahrgenommen werden. Die Spektrogramme der provisorischen GC-IMS-Kopplung sind noch nicht optimal. Eine begrenzte und definierte Probenmenge kann zur Lösung dieses Problems beitragen. Ebenfalls muss das IMS nach jeder Messung gereinigt werden, da sich Substanzen in der IMS-Messzelle festsetzen. Nach jedem Messversuch muss das Gerät durch spezielle Reinigungsprogramme gereinigt werden. Durch Verwendung anderer bzw. stärkerer Pumpen könnten solche Verschmutzungen schneller aus der Messzelle entfernt werden.

Das Spektrogramm des GC-IMS-Prototypen weist nur wenige Gemeinsamkeiten mit vorangegangenen Spektrogrammen auf. Der vor dem RIP und bei einer Driftzeit von 75 ms liegende Peak repräsentiert die Luftfeuchte der Ausatemluft. Im direkten Vergleich zu dem Raumluft-Spektrogramm des GC-IMS-Prototypen wird ersichtlich, dass der Peak im Spektrogramm der Ausatemluft stärker ausgeprägt ist. Dies bestätigt, dass es sich bei diesem Peak um den Luftfeuchte-Peak bzw. einen stark von Luftfeuchte abhängigen Peak handelt. Der Einfluss der relativen Luftfeuchtigkeit auf die Spektrogramme entfällt auch bei diesem Spektrometer nicht, fällt aber wesentlich geringer aus, als in den reinen IMS-Spektrogrammen.

Wie bereits in 3.1.4 beschrieben, wird zur Probensammlung im GC-IMS-Prototypen eine nicht beheizte Probeschleife verwendet. In vorangegangenen Versuchen (siehe Quelle [Hill2012]) stellte sich heraus, dass die Gewährleistung einer optimalen Probennahme notwendig ist, um die Kondensation der Probe und der darin befindlichen Substanzen zu minimieren bzw. zu verhindern. Je kühler die Umgebung eines Schlauchs, durch den die Probe strömt, ist, desto eher kondensiert die Luftprobe. Auch die Länge des Schlauches spielt eine entscheidende Rolle. Je länger der Schlauch, desto

wahrscheinlicher ist eine Kondensation. Da die Probeschleife in dem GC-IMS-Prototypen ein aufgewickelter, dünner Schlauch ist, ist es ratsam, die Probeschleife auf 35 - 40 °C (Temperatur der Ausatemluft: 35 °C) direkt zu beheizen, um eine Kondensation der Probe zu verringern oder gänzlich zu verhindern. Auf diesem Weg können eventuell weitere Substanzen detektiert werden.

Im Vergleich zu dem provisorischen GC-IMS-Aufbau wurde der Prototyp weiterentwickelt und wesentlich verbessert. Allerdings ist das Grundrauschen in den Spektrogrammen sehr ausgeprägt. Aufgrund des starken Grundrauschens liegt die Vermutung nahe, dass einige Substanz-Peaks in dem Rauschen verschwinden. Dieses Grundrauschen wird, laut Hersteller, sehr stark von den drei internen Pumpen beeinflusst. Durch Verwendung anderer oder isolierter Pumpen kann dieser Einfluss vermindert werden.

Zusammenfassend hat sich herausgestellt, dass das IMS für die Analyse komplexer Stoffgemische wie Raumlufte oder Ausatemluft ungeeignet ist. Um eine bessere Trennung der einzelnen Substanzen zu erreichen, muss eine GC-Säule vorgeschaltet werden. Durch die Verwendung einer solchen vorgeschalteten GC-Säule können die Substanzen nicht nur nach ihrer Driftzeit, sondern auch nach ihrer Retentionszeit getrennt werden. Dies zeigt sich in den Spektrogrammen der provisorischen GC-IMS-Kopplung und des GC-IMS-Prototyps. Für das provisorische GC-IMS stellten sich einige Probleme bezüglich der Probennahme und der Verschmutzung der IMS-Messzelle heraus, die sich auf die Spektrogramme auswirken. Der GC-IMS-Prototyp ist die Weiterentwicklung des Provisoriums. Seine Spektrogramme sehen im Vergleich zu den anderen Geräten sehr gut aus. Allerdings könnte die Probennahme noch optimiert und die Trennung der Substanzen wesentlich verbessert werden, indem eine längere GC-Säule verwendet wird. Die Messdauer wird dementsprechend ausgedehnt. Durchläuft die Temperatur der GC-Säule eine Kurve, kann die Messung jedoch wieder verkürzt werden. [Hillm2012]

5.2 Untersuchung verschiedener Proben mit Hilfe der provisorisch aufgebauten GC-IMS-Kopplung und der DMS

In folgendem Kapitel werden die Ergebnisse des unter Punkt 3.4.1.2 beschriebenen Versuchs diskutiert.

5.2.1 Analyse der Raumluft

Zwischen den beiden Spektrogrammen der provisorischen GC-IMS-Kopplung sind optische Unterschiede zu erkennen. Einige Peaks bilden sich den stärker, andere wiederum schwächer aus. Auffällig ist die Verschiebung des rechten Spektrogramms nach einer Messdauer von 20 s. Diese Verschiebung ergab sich nur bei diesem GC-IMS-Spektrogramm und kann daher nicht erklärt werden. Auch bei dieser Versuchsreihe treten Verunreinigungen im GC-IMS-Spektrogramm auf, die das Spektrogramm teilweise verfälschen. Problem bei diesen Spektrogrammen ist, wie in 5.1.1 bereits erläutert wurde, dass sich die meisten Peaks über einen langen Zeitraum in den Spektrogrammen darstellen.

Der Luftfeuchte-Peak verändert sich in den Spektrogrammen bezüglich seiner Lage nur minimal. Diese Veränderung spielt jedoch nur eine untergeordnete Rolle. Allerdings steigt seine Intensität von einem zum anderen Spektrogramm stark an. Der Luftfeuchte-Peak ist abhängig von Tag und Tageszeit der Messung. Durch die unterschiedlichen GC-Säulentemperaturen verändert sich vor allem die Retentionszeit dieses Peaks, da die Moleküle die GC-Säule schneller durchqueren. Der Peak tritt, aufgrund der GC-Säulentemperatur von 100 °C, nach einer verkürzten Retentionszeit auf, als in dem Spektrogramm der GC-Säulentemperatur von 80°C. Die Erhöhung der GC-Säulentemperatur hat auf einige Peaks (Peaks 3, 4 und 5) keinen Einfluss. Andere Peaks (beispielsweise Peak 2) werden durch die Erhöhung der GC-Säulentemperatur in ihrer Retentionszeit verschoben. Das Verhalten eines Peaks ist abhängig von den Eigenschaften der Substanz, die ihn erzeugt.

Die meisten Substanzen werden ab ihrem ersten Auftreten im Spektrogramm bis zum Schließen des Einlassventils detektiert, da permanent Raumluft angesaugt, durch die

GC-Säule und hin zu dem Einlassventil gepumpt wird. Andere wichtige Peaks werden vor allem von den stark ausgeprägten Peaks verdeckt. Die Konzeption der provisorischen GC-IMS-Kopplung ermöglicht keine definierte Probenmenge, die für eine Trennung der Substanzen notwendig wäre.

Im Vergleich zu den Intensitäten der DMS-Spektrogramme weist die GC-IMS-Kopplung sehr hohe Peakintensitäten auf. Diese resultieren womöglich aus der Detektionsart und der anschließend Verarbeitung des Messsignals. Es ist erforderlich, zu beachten, dass die Lage und die Intensität des Peaks manuell bestimmt wurden. Hierbei kann es zu Fehlern kommen.

Die zwei Spektrogramme, die mit dem DMS unter isothermer Beheizung der GC-Säule aufgenommen wurden zeigen starke optische Unterschiede. Die Peaks des linken Spektrogramms sind gegenüber denen des rechten Spektrogramms verschoben. Die Peaks erzeugenden Substanzen besitzen im rechten Spektrogramm niedrigere Retentionszeiten. Dieses Verhalten war zu erwarten. Aufgrund der höheren GC-Säulentemperatur von 100 °C durchqueren die Substanzen die GC-Säule schneller, als bei einer GC-Säulentemperatur von 80 °C. Aufgrund der unterschiedlichen GC-Säulentemperaturen werden die Substanzen unterschiedlich getrennt. Die Peaks sind teilweise gegeneinander verschoben. Peak 1 verschiebt sich bezüglich seiner Lage nicht. Es handelt sich hierbei um eine Substanz, die eine kurze Retentionszeit besitzt und damit bei beiden Temperaturen die GC-Säule schnell durchquert. Bei Peak 28 und Peak 13 stellt sich der Sachverhalt anders dar. Die beiden Peaks erfahren eine Lageverschiebung. Bei unterschiedlichen Säulentemperaturen verkürzt oder verlängert sich die Retentionszeit bestimmter Substanzen (Peak 28 und Peak 13), während bei anderen die Retentionszeit nahezu gleich bleibt (Peak 1). Die Veränderungen der Retentionszeit einiger Substanzen bei Erhöhung oder Senkung der GC-Säulentemperatur sind abhängig von den Substanz-Eigenschaften. Ausschlaggebend für die Veränderungen der Retentionszeiten sind die Molekülgröße und die Siedetemperatur bzw. der Dampfdruck der Substanzen. Aus diesem Grund behalten bestimmte Substanzen ihre Retentionszeit bei, während andere eine verkürzte Retentionszeit bei der Erhöhung der GC-Säulentemperatur erreichen. Es ist somit möglich, dass Peaks mit unterschiedlichen Retentionszeiten, aber gleicher Kompensationsspannung, die gleiche Substanz repräsentieren.

Trotz der Lageverschiebungen einiger Peaks ist es möglich, Peak-Anordnungen bzw. bestimmte Peak-Muster in den Spektrogrammen wieder zu erkennen. Diese Peak-Muster bzw. Peak-Konstellationen sind speziell für die Detektion bestimmter Substanzgemische in der Umgebungsluft entscheidend. Ein Beispiel dafür ist die Analyse von Raumluft zur Detektion von Schimmel und Schimmelsporen. Voraussetzung ist, dass das Muster bekannt ist.

Die Spektrogramme der Abbildung 32 weisen im Vergleich zu dem DMS-Spektrogramm der Abbildung 35 eine höhere Anzahl an Substanz-Peaks in den Spektrogrammen auf. Ein Grund dafür ist, dass die Messungen nicht nach einem Reinigungszyklus stattfanden, sondern unmittelbar nach vorangegangenen Messungen erfolgten. In Abbildung 32 ist erkennbar, dass einige Peaks mit fortschreitender Retentionszeit weiterhin in dem Spektrogramm auftreten und sich über das gesamte Spektrogramm ausdehnen. Sie besitzen jedoch eine verringerte Intensität. Ein Beispiel dafür ist Peak 1. In beiden Spektrogrammen (80 °C und 100 °C) tritt der Peak bei einer Retentionszeit von 87 s und einer Kompensationsspannung von -8,64 V mit annähernd gleicher Intensität. Bei gleichbleibender Kompensationsspannung, aber fortschreitender Retentionszeit, nimmt die Intensität ab. Der Peak wird aber dennoch registriert. Bei Betrachtung des in Tabelle 13 beschriebenen Peaks 11, wird ersichtlich, dass dessen Kompensationsspannung mit der des Peaks 1 übereinstimmt. Er ist jedoch in Richtung der Retentionszeit verschoben. Seine Intensitäten sind mit 0,011 V (80 °C) und 0,008 V (100 °C) eher gering. Wegen vieler solcher aneinander gereihten Peaks entsteht ein zum RIP paralleler Balken, der als Verschmutzung aufgrund der Substanz deklariert werden kann. Die vielen in dem Balken befindlichen Intensitäten sorgen dafür, dass durch die Klassifizierungssoftware zusätzliche Peaks in die Auswertung einbezogen werden, die aus Verschmutzungen herrühren. Dieses Verhalten weisen einige Peaks auf. Daraus erklärt sich ebenfalls die stark erhöhte Anzahl an Peaks der Spektrogramme der Abbildung 32 im Vergleich zum in Abbildung 35 dargestellten Spektrogramm.

Bei genauerer Betrachtung der einzelnen Peak-Intensitäten wird ersichtlich, dass viele der analysierten Peaks nur geringe Höhen von 0,007 und 0,008 V erreichen und sich damit nur minimal vom Untergrundrauschen abheben. Unter normalen Messbedingungen, d. h. dem Ansaugen der Probe von 20s wären diese Substanzen nicht

von der Klassifizierungssoftware als Peaks deklariert worden, da deren Intensitäten den Schwellwert von 0,007 V nicht erreicht hätten. Die Substanz-Peaks können ebenfalls in dem Spektrogramm der Abbildung 35 festgestellt werden. Allerdings ist deren Intensität so gering, dass sie nicht von der Auswertesoftware in die Analyse einbezogen wurden.

Die Peaks des DMS-Spektrogramms, das unter Verwendung einer Temperaturkurve der GC-Säule erzeugt wurde, sind aufgrund der Temperaturkurve sehr schmal. Alle Substanzmoleküle einer Art verlassen die GC-Säule je nach ihrer Retentionszeit bei einer bestimmten GC-Säulentemperatur in Gruppen.

Wichtig für jedes der aufgezeichneten und diskutierten Spektrogramme ist, dass Raumluft ein leicht veränderliches und von so vielen Faktoren abhängiges Stoffgemisch ist. Es darf nicht außer Acht gelassen werden, an welchem Tag und zu welcher Tageszeit das Spektrogramm aufgezeichnet wurde. Die Zusammensetzung der Luft in einem Raum verändert sich im Laufe eines Tages stark und ist abhängig von der Frischluftzufuhr, der Anzahl der in dem Raum befindlichen Personen usw.. Die Spektrogramme selbst wurden an verschiedenen Tagen erzeugt. Dementsprechend können in den Spektrogramm größere Anzahlen an Peaks feststellbar sein. Die Intensitätsunterschiede der einzelnen Peaks in den Spektrogrammen können aus verschiedenen Konzentrationen der Substanzen in der Raumluft herrühren.

Insgesamt lässt sich feststellen, dass die Wirkung der GC-Säule in der provisorischen GC-IMS-Kopplung nicht so gravierend ist wie in dem DMS. Die Wirkung ist zwar erkennbar, die Spektrogramme sind aber von vielen Faktoren, wie beispielsweise jeglichen Verunreinigungen, abhängig. Die permanente Zufuhr von vorgetrennter Raumluft erschwert die Detektion aller Substanzen der Ausatemluft durch das IMS.

5.2.2 Analyse der Ausatemluft

Die Spektrogramme der provisorischen GC-IMS-Kopplung weisen starke optische Unterschiede auf. Ein Problem dieser Spektrogramme war auch hier, dass die meisten Peaks während einer langen Messdauer bzw. Retentionszeit detektiert werden. Erst nach dem Schließen des Einlassventils der IMS-Messzelle werden die Peaks nicht mehr detektiert. Grund dafür ist auch hier die Probennahme des provisorischen GC-IMS-Aufbau. Wie bereits in Kapitel 5.1.2 beschrieben, atmet der Proband nur 30 s nach Öffnen des Ventils (Öffnen des Einlassventils bei ca. 20 s der Retentionszeit) in die GC-IMS-Kopplung aus. Es wird gefilterte Luft nachgeführt. Das führt zu dem vorliegenden Erscheinungsbild der Spektrogramme.

Es wird angenommen, dass es sich bei Peak 1 dieser Spektrogramme um den Luftfeuchte-Peak handelt. In diesen beiden GC-IMS-Spektrogrammen ist dieser Peak, im Vergleich zu den Spektrogrammen der Raumluft in Abbildung 31, in Richtung der Driftzeit verschoben. In den Spektrogrammen der Raumluft lag dieser Peak bei einer Driftzeit von ca. 190 s. Das lässt darauf schließen, dass die Luftfeuchte hier einen großen Einfluss auf beide Spektrogramme hat. Es wird angenommen, dass die Luftfeuchte der Ausatemluft aufgrund der höheren GC-Säulentemperatur von 100 °C abgesenkt wird. Die Intensitäten des Peaks 1 in den GC-IMS-Spektrogrammen der Ausatemluft sind ähnlich hoch, jedoch nicht identisch. Dies kann aus einer fehlerhaften Peakbestimmung oder aber aus einer fehlerhaften Probennahme resultieren. Gerade bei Ausatemluft kondensiert Luft in den nicht beheizten Schläuchen der GC-IMS-Kopplung. Die Konzentrationen einiger Substanzen der Ausatemluft verändern sich zudem im Laufe eines Tages, was zu unterschiedlichen Peak-Intensitäten führt. Ein ähnliches Verhalten weisen Peak 2, 3, 4 und 5 auf.

Auf den ersten Blick ist die Anzahl der Peaks im Vergleich zu den IMS-Spektrogrammen der Raumluft (Abbildung 31) etwas höher. Dieses Resultat wurde erwartet, da die Ausatemluft ein komplexeres Gasgemisch darstellt. Auf den zweiten Blick sind viele Peaks sowohl auf Verschmutzungen der IMS-Messzelle als auch auf Verunreinigungen der GC-Säule zurückzuführen. Speziell auf das Spektrogramm, das unter einer GC-Säulentemperatur von 100 °C erzeugt wurde, hatten Verschmutzungen der IMS-Messzelle und der GC-Säule besonders großen Einfluss. Bereits vor dem

Öffnen des Einlassventils, das nach ca. 20 s stattfand, sind Verunreinigungen zu sehen, die sich negativ auf das Spektrogramm auch nach dem Öffnen auswirken. Diese Verunreinigungen können ebenfalls für die Intensitätsunterschiede der Peaks verantwortlich sein. Die Verschmutzung stellt besonders bei dieser GC-IMS-Kopplung eine große Problematik dar. Die GC-Säule muss, wie unter 5.2.1 beschrieben, regelmäßig ausgeheizt und gespült werden.

Es ist unbedingt zu beachten, dass sich die Ausatemluft im Laufe des Tages ändert. Die Zu- oder Abnahme der Intensitäten einiger Substanz-Peaks ist dadurch möglich. Für die Analyse der Ausatemluft zur Krankheitsfrühdagnostik ist die Abnahme von Peak-Intensitäten von geringer Bedeutung, solange die den Peak erzeugende Substanz überhaupt detektiert wird. In der Diagnostik soll vor allem das Auftreten bestimmter Peaks-Konstellationen zur Erkennung von Krankheiten dienen. Die Konzentration der Substanzen, die durch die Intensitäten der Peaks angegeben wird, ist deshalb nur begrenzt notwendig.

Die DMS-Spektrogramme der Ausatemluft der Abbildung 37 ähneln in ihrer Form den DMS-Spektrogramme der Raumluft der Abbildung 32. Diese Unterschiede in den beiden Spektrogrammen der Ausatemluft sind ein Hinweis für die Verschiebungen einiger Peaks (z. B. Peak 18 und 25), die aus den unterschiedlich gewählten GC-Säulentemperaturen resultieren. Die Retentionszeit der Substanzen ist stark abhängig von der GC-Säulentemperatur. Auf andere Peaks wiederum hat GC-Säulentemperatur keinen Einfluss (z. B. Peak 6 und 7). Trotz der auftretenden Lageverschiebungen der Peaks sind auch in den Spektrogrammen der Ausatemluft Peak-Muster erkennbar. Genau diese Peak-Anordnungen bzw. Peak-Muster sind für die Analyse der Ausatemluft entscheidend. Das DMS kann je nach Anwendung angepasst werden. Ist beispielsweise das Peak-Muster für Rheuma und dessen Retentionszeit-Bereich bekannt, könnte dieses Muster durch die präzise Einstellung der GC-Säulentemperatur gezielt dargestellt werden.

In den Spektrogrammen der Ausatemluft ist der Einfluss der Luftfeuchte erkennbar. Im Retentionszeitbereich von 80 bis 90 s tritt eine Verschiebung des RIPs auf. Diese Verschiebung tritt in diesem Retentionszeitbereich auf, da die Probennahme für die Erzeugung dieser Spektrogramme von 20 s auf 40 s verlängert wurde.

Die Anzahl der Peaks unterscheidet sich bei diesen beiden Spektrogrammen. Es wird davon ausgegangen, dass einige Peaks aufgrund der unterschiedlichen Zusammensetzung der Ausatemluft zustande kommen. Die erste Messung (80 °C) wurde am Vormittag des Messtages aufgezeichnet, die zweite (100 °C) am Nachmittag. Es ist bekannt, dass gerade bei der Analyse der Ausatemluft die Nahrungsaufnahme des Probanden Einfluss auf die Messergebnisse hat. Nach langer Betriebsdauer des microAnalyzers™ ohne Reinigungsdurchlauf bilden sich zudem Verschmutzungen aus, die sich in den Spektrogrammen widerspiegeln. Dies war gerade bei der Analyse der Ausatemluft, unter Nutzung der GC-Säulentemperatur von 80 °C, der Fall. Zuvor fanden vier Messungen bei noch geringeren GC-Säulentemperaturen (30 °C bis 60 °C) statt. Es liegt nahe, dass sich dadurch einige Substanzen der Ausatemluft in der GC-Säule angesammelt haben, die sich durch Erhöhung der GC-Säulentemperatur lösen und sich in dem betrachteten Spektrogramm ausbilden. Im Vergleich zum DMS-Spektrogramm in Abbildung 38 (Temperaturkurve der GC-Säule) wird in den Spektrogrammen der Abbildung 37 eine größere Anzahl an Substanz-Peaks detektiert. Viele der Peaks erreichen nur Intensitäten von 0,007 und 0,008 V, die nur geringfügig über dem Grundrauschen liegen. Ursache dafür sind auch hier die Ausdehnung der Probennahme auf 40 s und Verunreinigungen des Spektrometers. Diese Tatsache wird vor allem bei dem Spektrogramm, das unter einer GC-Säulentemperatur von 80 °C aufgezeichnet wurde, deutlich. Für jede GC-Säulentemperatur wurde in dem Versuch nur eine Messung mit Hilfe der Klassifizierungssoftware analysiert. Je höher die Anzahl an Messungen einer Gruppe und damit die zu analysierende Datenmenge ist, desto genauer und sicherer wird das Ergebnis.

Peak 6 entspricht dem Azeton-Peak und damit dem Peak 1 des Spektrogramms aus Abbildung 38. Da die Probennahme dieser Messungen von 20 s auf 40 s verlängert wurde, verzögerte sich der gesamte Messablauf um 20 s. Unter Beachtung dessen ergibt sich eine annähernd gleiche Retentionszeit von 66,5 s. Peak 6 ist lediglich leicht in Richtung der Kompensationsspannung verschoben. Die Intensitäten des Peaks 6 im linken Spektrogramm und des Peak 6 im rechten Spektrogramm der Abbildung 37 sind geringfügig höher als in dem DMS-Spektrogramm der Abbildung 38, weil sich die Probennahme dieser Messungen über einen Zeitraum von 40 s ausdehnte. Diese

Intensitäten liegen ebenfalls im Größenbereich der Intensität des Peaks 1 der Abbildung 38 (Intensität: 0,133 V).

Das DMS- Spektrogramm der Abbildung 38 unterscheidet sich von den in Abbildung 37 dargestellten Spektrogrammen der Ausatemluft und dem in der Abbildung 35 dargestellten Raumluf-Spektrogramm. Im Vergleich zu den Spektrogrammen isothermer GC-Säulentemperatur sind die Peaks über das gesamte Spektrogramm verteilt. Die Peaks sind in den Spektrogrammen sehr schmal und abgegrenzt dargestellt, anders als bei den Spektrogrammen isothermer GC-Säulentemperatur. Besonders auffällig in Abbildung 38 ist die Verschiebung des RIPs im Retentionszeitbereich von 60 bis 70 s. Sie zeigt den Einfluss der Luftfeuchte der Ausatemluft auf die Spektrogramme. Bis auf die extreme Verschiebung bewirkt die Luftfeuchte jedoch keine weiteren Veränderungen im Spektrogramm.

5.2.3 Analyse des Headspace des HEYM-Röhrchens

Auch für die Analyse des Headspace des HEYM-Röhrchens spielt die Problematik der Verschmutzung bei der GC-IMS-Kopplung eine entscheidende Rolle. Ein weiteres Problem dieser Spektrogramme ist, dass die meisten Peaks während der gesamten Messdauer bzw. Retentionszeit detektiert werden und dadurch andere Substanz-Peaks überlagern. Zusätzlich muss beachtet werden, dass wegen des Aufbaus bzw. der Konzeption der GC-IMS-Kopplung ein anderes Verfahren zur Probennahme erforderlich war, als es bei den bisherigen Versuchen (Raumluft und Ausatemluft) der Fall war. Mit Hilfe einer Spritze, die ein Volumen von 6 ml aufnehmen kann, wurde die Luft über dem Nährboden manuell abgesaugt und in den beheizten Injektor des GC-IMS-Aufbaus injiziert. Die Probenmenge war damit sehr viel geringer als in den vorangegangenen Versuchen. Die Probe wurde mittels nachströmender, gefilterter Luft durch die GC-Säule zum IMS transportiert. In dem Spektrogramm wurden dadurch eher weniger Peaks durch Substanzen der Probe als durch die gefilterte Raumluft erzeugt. Anhand der Spektrogramme wird ersichtlich, dass nach einer Retentionszeit von 150 s nur noch die gefilterte Raumluft analysiert wurde.

Bei Peak 1 handelt es sich um den Luftfeuchte-Peak, dessen Intensität im Vergleich zum Luftfeuchte-Peak der GC-IMS-Spektrogramme der Ausatemluft (siehe Abbildung 36) klein ist. Die Luftfeuchte beeinflusst die GC-IMS-Spektrogramme der Headspace des HEYM-Röhrchens weniger als es bei den Messungen der Ausatemluft der Fall war. Peak 1 wird, aufgrund der GC-Säulentemperaturen, in Richtung der Retentionszeit verschoben. Die Intensität der Peaks 1 ist in beiden GC-IMS-Spektrogrammen unterschiedlich. Es wird angenommen, dass sich der Luftfeuchte-Peak durch die höhere GC-Säulentemperatur minimiert wird. Diese Feststellung kann möglicherweise aus einer fehlerhaften Peakbestimmung resultieren.

Die in Tabelle 18 präsentierten Peaks 2, 3, 4 und 5 zeigen, dass die Peaks aufgrund der unterschiedlichen GC-Säulentemperaturen in Richtung der Retentionszeit verschoben werden. Zwischen den einzelnen Peaks in den beiden Spektrogrammen treten dennoch Intensitätsunterschiede auf. Ursachen dafür können eine fehlerhafte Bestimmung der Peaks und/oder die nicht präzise Erwärmung des HEYM-Röhrchens sein. Ein weiterer Grund für vorhandene Intensitätsunterschiede können Verunreinigungen durch

Substanzen sein, die sich in der IMS-Messzelle, aber auch in der GC-Säule befinden. Der Grad der Verschmutzungen der IMS-Messzelle ist im rechten Spektrogramm (100 °C) enorm. Es wird vermutet, dass die Verschmutzungen der Hauptgrund, für das starke Abweichen der Intensitätswerte ist. Diese Problematik wurde bereits mehrmals diskutiert.

Bei Betrachtung der DMS-Spektrogramme isothermer GC-Säulentemperatur der Abbildung 37 werden wieder die Verschiebungen einiger Peaks ersichtlich, die bereits erläutert wurden. Verdeutlicht werden solche Verschiebung in diesen Spektrogrammen beispielsweise an Peak 45 und Peak 22 sowie Peak 18 und Peak 8. Andere Peaks, wie beispielsweise Peak 3 oder Peak 14, erfahren aufgrund der unterschiedlichen GC-Säulentemperaturen keine Verschiebung bezüglich ihrer Retentionszeit. Die Peak-Konstellationen bzw. Peak-Muster, die für die Analyse des Headspace von Nährboden-Röhrchen entscheidend sind, können trotz der Verschiebung einiger Peaks bestimmt werden. Grundsätzlich könnten die zu untersuchenden Nährböden an sich anhand der Peak-Muster identifiziert werden. Bei Beimpfung der Nährböden mit Bakterien-Kulturen, könnten die Zusammensetzung und die Veränderung des Headspace überwacht werden, um eine erfolgreiche Bakterienbeimpfung zu bestätigen. Außerdem könnten Bakterienkulturen und deren Populationsgröße analysiert werden.

Bei Analyse der Lage des Peaks 3 wird ersichtlich, dass es sich um den auch in der Ausatemluft des Probanden vorkommenden Azeton-Peak handelt. Dieser könnte, aufgrund der Aufspaltung der im Nährboden enthaltenen Brenztraubensäure (oder Acetylsalicylsäure) zustande kommen. In diesem Fall wird die Acetylgruppe (Summenformel: C_2H_3O) der Verbindung durch das DMS detektiert. Bisher wurde angenommen, dass es sich bei dem Peak in der Ausatemluft um den Azeton-Peak handelt. Anscheinend wird dieser Peak jedoch durch die Acetylgruppe erzeugt, die bei der Molekülaufspaltung bzw. Trennung des Azetons durch das Spektrometer entsteht. Die Intensitäten des Peaks 3 der DMS-Spektrogramme der Abbildung 40. liegen nicht im Größenbereich der Intensität des Peaks 1 des DMS-Spektrogramms der Abbildung 41 (Intensität: 0,037 V). Sie sind höher, da sich die Probennahme dieser Messungen über 40 s ausdehnte. Dadurch wurde eine größere Probenmenge mit entsprechend höherer Analytkonzentration analysiert. Trotzdem unterscheiden sich die Intensitäten des Peaks 3 in den beiden DMS-Spektrogrammen der Abbildung 40. Bei einer GC-

Säulentemperatur von 80 °C ist die Intensität um 0,024 V höher, als bei einer GC-Säulentemperatur von 100 °C. Verantwortlich für dieses Verhalten können vorhandene Verwischungen in den DMS-Spektrogrammen, ähnlich wie bei Peak 1, sein. Die Temperatur des HEYM-Röhrchen (idealerweise 37 °C) könnte zum Zeitpunkt der Aufnahme der Spektrogramme zudem unterschiedlich hoch gewesen sein. Eine exakte Erwärmung des HEYM-Röhrchens auf 37 °C war, aufgrund fehlender Gerätschaften, nicht möglich. Die Substanzen des Nährbodens vergasen, abhängig von ihren chemischen Eigenschaften, bei höherer Temperatur zunehmend. Die Analytkonzentrationen in den jeweiligen Luftproben können variieren, sodass Intensitätsunterschiede eines Peaks in den Spektrogrammen auftreten.

Im Vergleich zu dem in Abbildung 41 dargestellten Spektrogramm (Temperaturkurve der GC-Säule) wird in den beiden Spektrogrammen der Abbildung 40 (GC-Säulentemperatur 80 °C und 100 °C) eine geringfügig höhere Anzahl an Substanz-Peaks detektiert. Ursache dafür ist die Probennahme von 40 s. Diese Problematik wurde bereits in Kapitel 5.2.1 genauer betrachtet.

Die DMS-Spektrogramme aus Abbildung 35 (Raumluft) und Abbildung 38 (Ausatemluft eines Probanden) unterscheiden sich rein optisch stark von dem HEYM-Röhrchen-Spektrogramm der Abbildung 41. Die Anzahl der Peaks ist im Spektrogramm des Headspace des HEYM-Röhrchens sehr viel größer als in den anderen Spektrogrammen der Raumluft und der Ausatemluft. Der Nährboden des HEYM-Röhrchens besteht (siehe Kapitel 3.4.1.2) aus 13 verschiedenen Substanzen. Die 13 Substanzen scheinen also in ihre Einzelbestandteile getrennt worden zu sein, sodass eine eindeutige Zuordnung der Substanzen zu den Peaks nicht möglich ist.

Die Verschiebung des RIPs, die in allen DMS-Spektrogrammen der Ausatemluft im Bereich kurzer Retentionszeiten von 60 bis 70 s auftritt, ist in diesem Spektrogramm nicht vorhanden. Die Luftprobe besitzt eine geringere Luftfeuchte als die Ausatemluft. Die Spektrogramme werden in diesem Bereich nicht beeinflusst.

Durch verschiedene, stark ausgeprägte Substanz-Peaks werden Verunreinigungen in allen DMS-Spektrogramm (sowohl isotherm als auch Temperaturkurve) erzeugt, die

sich durch zum RIP paralleler Balken darstellen. Die darin befindlichen Intensitäten bewirken, dass durch die Klassifizierungssoftware zusätzliche Peaks definiert und in die Auswertung einbezogen werden, obwohl sie durch eine Substanz hervorgerufen werden. Dieser Effekt wurde bereits in vorangegangenen Messungen mit dem microAnalyzer™ der Seriennummer 0194 verschiedener Luftproben, in denen sich viele unterschiedliche Substanzen befinden, beobachtet. Um zu untersuchen, ob dieser Effekt geräteabhängig ist, sollten DMS-Spektrogramme eines weiteren microAnalyzers™ mit denen des hier verwendeten Spektrometers verglichen werden. Peak 36 ist ein Beispiel des DMS-Spektrogramms der Abbildung 38 für die Verwischungen bzw. Verunreinigungen, die in den DMS-Spektrogrammen des HEYM-Röhrchens feststellbar sind.

Peak 1 dieses DMS-Spektrogramms entspricht dem Peak 3 der DMS-Spektrogramme der Abbildung 40. Die Probennahme dieser Messungen mit isothermen GC-Säulentemperaturen wurde von 20 s auf 40 s verlängert. Dadurch verzögert sich der gesamte Messablauf um 20 s. Unter Beachtung dessen ergibt sich eine annähernd gleiche Retentionszeit des Peaks 3 (isotherme GC-Säulentemperatur) und Peaks 1 (Temperaturkurve der GC-Säule) von 70,67 s. Innerhalb des DMS-Spektrogramms des HEYM-Röhrchens ist Peak 1 geringer ausgeprägt, als im Spektrogramm der Ausatemluft (siehe Abbildung 38).

Die DMS- und GC-IMS-Spektrogramme dieses Versuchs sind nicht direkt vergleichbar, da sich vor allem die Spektrogramme der GC-IMS-Kopplung bezüglich ihrer Form stark von den DMS-Spektrogrammen unterscheiden. Die Versuchsreihe machte deutlich, wie sehr die GC-Säulentemperatur die Spektrogramme bzw. die darin befindlichen Peaks beeinflusst. Die Wahl der richtigen GC-Säulentemperatur ist für die Erzeugung von Spektrogrammen entscheidend. Die Peaks der GC-IMS-Spektrogramme weisen bei Erhöhung der GC-Säulentemperatur eine positive Verschiebung der Peaks in Richtung der Retentionszeit auf, während die Peaks der DMS-Spektrogramme eine verkürzte Retentionszeit aufweisen und dadurch eher detektiert werden. Dieses entgegengesetzte Verhalten ist unerklärlich. Der provisorische Aufbau der GC-IMS-Kopplung insgesamt und die starken Verschmutzungen scheinen der Hauptgrund für diesen Effekt zu sein.

Für die DMS-Spektrogramme isothermer GC-Säulentemperatur ergaben sich zwar auf den ersten Blick höhere Anzahlen an Peaks, auf den zweiten Blick zeigte sich jedoch, dass die Verlängerung der Probennahme von 20 s auf 40 s die Anzahl der Peaks stark beeinflusste. Daher sollte der Versuch mit gleichen Probenahmezeiten wiederholt werden, um zu überprüfen, ob eine längere Probenahmedauer, insbesondere für die Ausatemluftanalyse, notwendig ist. In den DMS-Spektrogrammen, die unter Nutzung einer Temperaturkurve der GC-Säule erzeugt wurden, wird ersichtlich, dass die Peaks präziser und schmaler bzw. getrennter dargestellt sind, als in den Spektrogrammen isothermer GC-Säulentemperaturen. Dies resultiert aus der verwendeten Temperaturkurve, durch die die Substanzen die GC-Säule „gestaffelt“ und gruppiert verlassen. Die Spektrogramme der Ausatemluft, die unter Verwendung der provisorischen GC-IMS-Kopplung erzeugt wurden, wurden stärker von der hohen Luftfeuchte beeinflusst, als die DMS-Spektrogramme. Je höher die GC-Säulentemperatur gewählt wird, desto geringer stellt sich der Einfluss der Luftfeuchte dar.

Verunreinigungen, die im Laufe der Messungen entstehen, besitzen einen großen Einfluss auf die Spektrogramme beider Messgeräte. Sie wirken sich negativ auf die Spektrogramme aus, sodass wichtige Peaks überlagert und nicht als separate Peaks wahrgenommen werden können. Als besonders schwierig stellte sich die Auswertung der Spektrogramme der provisorischen GC-IMS-Kopplung heraus. Die GC-IMS-Spektrogramme wurden von vielen Faktoren negativ beeinflusst, ganz besonders aber von Verunreinigungen der IMS-Messzelle und der GC-Säule. Es wäre zu überprüfen, ob durch den Einsatz anderer bzw. stärkerer Pumpen eine bessere Spülung und damit eine schnellere Beseitigung der Verunreinigungen der IMS-Messzelle und der GC-Säule erzielt werden kann. Das Reinigen der GC-Säule kann durch regelmäßiges Ausheizen und/oder Spülen erfolgen. Die Art der Probennahme stellte sich als problematisch dar. Wegen der permanenten Probenzufuhr, wird nicht nur die Probe sondern auch die nachgeführte Luft analysiert. Infolgedessen werden mögliche wichtige Peaks überlagert. Die Spektrogramme werden verfälscht. Aus den vorgenannten Gründen sollte die Probe grundsätzlich definiert und begrenzt werden, beispielsweise durch eine Probenschleife. Zusätzlich ist ein separater Kreislauf zur Probennahme empfehlenswert. Die durch den Probennahmekreislauf gesammelte Probe kann dann mit Hilfe einer weiteren

geräteinternen Pumpe durch die GC-Säule hin zur IMS-Messzelle gepumpt werden. Der Versuch hat gezeigt, dass die GC-IMS-Kopplung optimiert werden muss, um vor allem Spektrogramme der Ausatemluft erzeugen zu können.

5.3 Untersuchungen von Proben mit Hilfe der DMS und des GC-IMS der Firma STEP

Folgend werden die in Kapitel 4.3 präsentierten Ergebnisse des unter 3.4.1.3 beschriebenen Versuchs diskutiert.

5.3.1 Analyse der Spektrogramme der Raumluft

Die Anzahl der Peaks in den DMS-Spektrogrammen steigt mit fortschreitender Tageszeit. Grund für dieses Verhalten könnte sein, dass im Laufe eines Tages die Luft des Raumes durch die darin befindlichen Personen veratmet wird und sich dadurch auch zunehmend Ausatemluft in dem Raum befindet. Die Konzentrationen der in der Raumluft befindlichen Substanzen verändern sich über einen Tag, einige nehmen zu, andere hingegen ab. Die Konzentration bestimmter Substanzen in der Raumluft nimmt so stark ab, dass deren Peaks in den Spektrogrammen so geringe Intensitäten ausbilden, dass diese von der Klassifizierungssoftware dem Untergrundrauschen zu geordnet werden.

Die drei Messungen fanden an verschiedenen Messtagen bzw. Messzeiten statt. Deshalb wird davon ausgegangen, dass die Zusammensetzung der Raumluft prinzipiell Unterschiede aufweist. Die Substanzen der Raumluft sind von verschiedenen Faktoren abhängig. Beispiele dafür sind die Anzahl der in dem Raum befindlichen Personen, die Wärme und Luftfeuchte der Raumluft und im Raum betriebene Geräte. Personen tragen nicht nur durch ihren Stoffwechsel zur Veränderung der Substanzkonzentrationen der Raumluft bei. Sie beeinflussen diese durch ihren Körpergeruch, der sich zusätzlich durch Duftstoffe verändern lässt, und durch Nahrungs- bzw. Genussmittel, die im jeweiligen Messraum verzehrt werden. Selbst nach der Frischluftzufuhr ändern sich die Zusammensetzung und die Substanzkonzentrationen der Raumluft, da auch die äußere Umgebungsluft von Tag zu Tag verschieden ist. Zwischen den Intensitäten einiger Peaks der Spektrogramme Raumluft 2 und 3 ist ein Zusammenhang erkennbar. Die Intensitäten dieser Peaks sinken von der früheren zur späteren Messungen ab (Peak 1, 21 und 24). Es wird davon ausgegangen, dass dieser Sachverhalt aus der Veratmung

bzw. der Verstoffwechselung der Substanzen durch die im Raum befindlichen Personen resultiert. Ein Zusammenhang des Spektrogramms Raumluf 1 bezüglich der Intensitäten einiger Peaks mit den anderen Spektrogrammen ist nicht eindeutig feststellbar. Die Intensitäten anderer Peaks wiederum nehmen im Laufe eines Tages zu (Peak 9). Die Konzentration der Substanzen nimmt im Laufe des Tages zu. Gleiches trifft auf den Azeton- bzw. Acetylgruppen-Peak (Peak 26), der in vorangegangenen Ausatemluftmessungen bestimmt wurde, zu. In diesem Spektrogramm befinden sich insgesamt 28 Peaks. Das lässt darauf schließen, dass sich in der Raumluf einige Substanzen der Ausatemluft der im Messraum befindlichen Person ansammeln. Die Intensitäten sind klein und liegen nur geringfügig über dem Hintergrundrauschen. Manche Peaks (z. B. Peak 14) sind in den drei Spektrogrammen ähnlich hoch ausgeprägt. Die Konzentration dieser Substanzen nimmt im Laufe der Versuchstage weder ab noch zu. Diese Substanzen werden folglich kaum durch die Personen im Raum beeinflusst.

Es muss beachtet werden, dass nur ein Datensatz pro Spektrogrammgruppe ausgewertet wurde. Es kann sich bei einigen Peaks (z. B. Peak 24) auch um Ausnahmen in den jeweiligen Spektrogrammgruppen handeln. Das führt ebenfalls zu den vorangegangenen Ergebnissen. Eine größere Menge an Spektrogrammen einer Gruppe, z. B. Spektrogramme, die zwischen 14 und 15 Uhr aufgenommen wurden, würden zu einer genaueren Spektrogramm-Analyse mit Hilfe der Klassifizierungssoftware beitragen.

Bei der Versuchsreihe, die mit Hilfe des GC-IMS-Prototypen stattfand, fiel in erster Linie auf, dass die vom Benutzer eingestellten GC-Säulentemperaturen von den tatsächlich in dem Gerät auftretenden Temperatur-Werten der GC-Säule abweichen. Besonders auffällig waren die Abweichungen bei Temperatureinstellungen bis 40 °C. Die Temperaturdifferenz beträgt in diesem Fall 11,51 °C. Es wurde beobachtet, dass die Abweichung der tatsächlichen von der voreingestellten GC-Säulentemperatur umso geringer ausfiel, je höher die Temperatur bei der Voreinstellung gewählt wurde. Bei einer Temperaturvorgabe von 80 °C wurde eine tatsächliche Säulen-Temperatur von 83,4 °C erreicht. Lag die vorgegebene Temperatur bei 100 °C wurde eine tatsächliche GC-Säulentemperatur von 104 °C gemessen. Es wird angenommen, dass sich die Temperatur des Detektors der IMS-Messzelle (80 °C) auf die Temperatur der GC-Säule

auswirkt. Durch bessere Abschirmung der beiden Bauelemente voneinander, kann dieser Effekt vermindert werden.

Die Spektrogramme der beiden Geräte sind nur wenig miteinander vergleichbar, da sich die Spektrometer in ihrem Aufbau, ihren Bauelementen und ihrer Detektionsmethode voneinander unterscheiden. Der Hauptgrund ist, dass die verwendeten Spektrometer über unterschiedliche GC-Säulen-Typen verfügen. In dem GC-IMS-Prototypen erfolgt die Trennung der Substanzen nach ihrer Retentionszeit mit Hilfe einer Multikapillartrennsäule, im microAnalyzer™ übernimmt diese Funktion eine Kapillartrennsäule. Die GC-Säulen-Typen weisen unterschiedliche Eigenschaften auf, die in Tabelle 2 und Tabelle 3 beschrieben sind. Die Länge der GC-Säule des GC-IMS-Prototypen beträgt 0,2 m. Daher bilden sich die Substanz-Peaks bereits nach sehr kurzer Retentionszeit in den GC-IMS-Spektrogrammen aus. Die GC-Säule des microAnalyzers™ ist mit einer Länge von 10 m deutlich länger, sodass sich die Trennung der Substanzen über einen längeren Zeitraum erstreckt. Die Substanzen treten über einen großen Retentionszeitbereich im DMS-Spektrogramm auf. Hinzu kommt, dass die GC-Säulen unterschiedlich beheizt werden. Die GC-Säule des GC-IMS-Prototypen wird isotherm (GC-IMS), die des microAnalyzers™ mit Hilfe einer Temperaturkurve temperiert.

Bei Betrachtung der ermittelten Anzahlen der Peaks sind starke Unterschiede zwischen den Spektrogrammen feststellbar. Besonders auffällig ist die Abweichung der ermittelten Anzahl der Peaks in Raumluft 40 °C und Raumluft 1. Es wird angenommen, dass sich in der GC-Säule des GC-IMS-Prototypen viele Verunreinigungen bzw. Substanzen vorangegangener Analysen befinden, die aufgrund der niedrigen GC-Temperaturen erst in diesem Spektrogramm detektiert werden. Es wird vermutet, dass der GC-Säulentyp zu diesem Sachverhalt beiträgt. Um das Festsetzen von Substanzen und das daraus resultierende Verfälschen der Spektrogramme auszuschließen, sollte die GC-Säule regelmäßig für den Temperaturbereich bis 40 °C ausgeheizt und gespült werden. In den Spektrogrammen der Abbildung 43 sind diese Verunreinigungen in Form von parallel zum RIP verlaufenden Balken zu erkennen. Die in diesen Balken befindlichen Intensitäten werden von der Klassifizierungssoftware als eigenständige Peaks deklariert. Bei der Aufnahme des GC-IMS-Spektrogramms Raumluft 40 °C fiel

besonders auf, dass dessen Grundrauschen stärker als das der anderen GC-IMS-Spektrogramme ausgeprägt ist. Das kann dazu führen, dass fälschlicherweise zusätzliche Peaks bestimmt werden. Das führt zu einer hohen Anzahl an Peaks. Raumluft 40 °C wurde an einem anderen Tag als die beiden anderen GC-IMS-Spektrogramme aufgezeichnet. Daher kann auch eine andere Zusammensetzung der Raumluft für weitere Peaks verantwortlich sein. Ein weiterer zu beachtender Aspekt ist die Uhrzeit der Messung, da sich die Zusammensetzung der Raumluft innerhalb eines Tages ändert.

Raumluft 80 °C (GC-IMS) und Raumluft 2 (DMS) weisen die geringsten Anzahlen an Peaks auf. Die Raumluft scheint um 8.30 Uhr weniger Einflüssen ausgesetzt gewesen zu sein, als zu den anderen Messzeiten. Das GC-IMS detektierte nur halb so viele Substanzen wie das DMS. Ein Grund dafür könnte die isotherme Beheizung der GC-Säule auf 80 °C sein. Einige Substanzen benötigen höhere Temperaturen, um die GC-Säule zu durchqueren. Die Temperatur der GC-Säule des DMS wird schrittweise von 40 °C auf 120 °C erhöht. Dadurch verlassen alle Substanzmoleküle der Raumluft die GC-Säule gruppiert. Aus diesem Sachverhalt resultiert eine höhere Anzahl an Peaks. Gleiches gilt für die Spektrogramme Raumluft 100 °C (GC-IMS) und Raumluft 3 (DMS). Die Abweichung der Anzahl der Peaks ist in Raumluft 100 °C und Raumluft 3 geringer als die Abweichung der Anzahl der Peaks in Raumluft 80 °C und Raumluft 2. Das bedeutet, dass sich die Veränderungen der Raumluft im Laufe des Tages auf beide Spektrogramme auswirken. Die GC-IMS-Spektrogramme unterscheiden sich aber auch aufgrund der gewählten GC-Säulentemperatur. Die Anzahl der Peaks ist in dem GC-IMS-Spektrogramm Raumluft 100 °C höher als in Raumluft 80 °C (GC-IMS). Dieser Sachverhalt bestärkt die Theorie, dass einige Substanzen bei zu geringer GC-Säulentemperatur, die GC-Säule verspätet oder gar nicht durchqueren. Bei einer GC-Säulentemperatur von 100 °C verlässt eine höhere Anzahl an Substanzen die GC-Säule. Zur Bestätigung dieser Theorie müssten die Messungen nochmals hintereinander durchgeführt werden.

Es ist desweiteren zu beachten, dass die Probensammlung des microAnalyzers™ auf eine andere Art und Weise als bei dem GC-IMS erfolgt. Der microAnalyzer™ saugt pro Sekunde 1 ml des Probegases ein. Es werden 20 ml der Probe für die Analyse in das Gerät gesaugt. Das Volumen der Probeschleife des GC-IMS-Prototypen ist nicht

bekannt. Es wird angenommen, dass das Volumen der Probeschleife sehr gering ist. Ein kleines Volumen führt zu kleinen Substanzkonzentrationen. Einige Substanzen bilden so geringe Peak-Intensitäten aus, dass diese wegen des Grundrauschens nicht erkannt werden können.

Für optimale Ergebnisse der GC-IMS-Spektrogramme müsste anstatt der Kompensationsspannung die Driftzeit der Peaks bzw. der Substanzen angegeben werden. Es existiert noch keine separate Software für die Auswertung der GC-IMS-Spektrogramme. Der Luftfeuchte-Peak, der sich links vom RIP befindet, wird wegen der Transformation der GC-IMS-Spektrogramme nicht in die Analyse einbezogen. Für die Auswertung wurden die Peaks, die sich rechts neben dem RIP ausbilden, herangezogen. Das ist auch bei der Auswertung der DMS-Spektrogrammen der Fall. Die optische Auswertung des Luftfeuchte-Peaks in den GC-IMS-Spektrogrammen der Abbildung 43 ergibt, dass sich die Intensität des Luftfeuchte-Peaks und dessen Ausdehnung mit zunehmender GC-Säulentemperatur vermindert. Die Luftfeuchte wirkt sich mit zunehmender GC-Säulentemperatur weniger auf die Spektrogramme aus.

Die hohen Intensitätswerte einiger Peaks (z. B. Peak 1) in Raumluft 40 °C resultieren aus vorhandenen Verunreinigungen der IMS-Messzelle und der GC-Säule. Die Betrachtung der Messprotokolle hat ergeben, dass vor der Aufnahme des GC-IMS-Spektrogramms Raumluft 40 °C mehrere Messungen mit niedrigen GC-Säulentemperaturen stattfanden, das Spektrometer nicht gespült und die GC-Säule nicht ausgeheizt wurde. Das hätte für genauere Ergebnisse stattfinden müssen. Der Verzicht auf das Spülen der IMS-Messzelle und das Ausheizen der GC-Säule ist die Ursache dafür, dass derartigen Verschmutzungen in dem GC-IMS-Spektrogramm auftreten. Zudem muss beachtet werden, dass Raumluft 40 °C an einem anderen Messtag als Raumluft 80 °C und Raumluft 100 °C aufgezeichnet wurde.

Das Verhalten einiger Peaks (Peak 2, 7 und 16) lässt darauf schließen, dass Peaks durch die unterschiedlichen GC-Säulentemperaturen in Richtung der Retentionszeit verschoben werden. So weisen Peaks 2 und 11 ähnliche Intensitäten und ähnliche Kompensationsspannungen auf, sind aber in Richtung der Retentionszeit bestätigt. Solche Lageverschiebung sind auch zwischen Peak 7 und Peak 56 sowie Peak 16 und

Peak 8 zu beobachten. Gleichzeitig erfahren die Peaks auch eine leichte Verschiebung in Richtung der Kompensationsspannung. Es wird angenommen, dass die Verschiebungen in Richtung der Kompensationsspannung aus geräteinternen Fehlern oder aus der Transformation der GC-IMS-Daten resultieren. Für andere Substanzen (z. B. Peak 9) scheint die gewählte GC-Säulentemperatur nur eine untergeordnete Rolle zu spielen.

5.3.2 Analyse der Spektrogramme der Ausatemluft

Die Ausatemluft des Menschen ist ein komplexes und veränderliches Stoffgemisch. Es wird davon ausgegangen, dass sich die Zusammensetzung der Ausatemluft im Laufe eines Tages nicht so gravierend verändert wie die der Raumluft. Die Spektrogramme der Ausatemluft sollten sich daher nur geringfügig voneinander unterscheiden. Die Anzahl der in den Spektrogrammen ausgebildeten Peaks bestätigt diese Annahme. Die Spektrogramme unterscheiden sich in der Anzahl der Peaks nur minimal (Ausatemluft 1 16, Ausatemluft 2 18 und Ausatemluft 3 20 Peaks). In den Spektrogrammen Ausatemluft 2 und in Ausatemluft 3 bilden einige wenige Substanz-Peaks aus, deren Intensitäten nur geringfügig über dem Untergrundrauschen liegen. Es wird davon ausgegangen, dass diese Peaks Substanzen der Ausatemluft zugeordnet werden können, die sich im Laufe des Tages in ihrer Konzentration nur minimal aufgrund des menschlichen Stoffwechsels verändern. Es wird angenommen, dass diese Peaks für eine diagnostische Anwendung nicht ausschlaggebend sind. Es wird vermutet, dass sich diese Peaks im Falle einer möglichen Erkrankung stärker oder gar nicht ausbilden würden, sodass sie eindeutig detektiert oder nicht detektiert werden. Für den diagnostischen Einsatz der IMS bzw. DMS ist die Intensität eines Peaks generell nur von sekundärer Bedeutung.

Peak 1 bzw. der Azeton- bzw. Acetylgruppen-Peak, konnte, wie erwartet in den Spektrogrammen bestimmt werden. Die Intensität des Peaks verändert sich von innerhalb der Spektrogramme der Ausatemluft nur geringfügig. Es wird angenommen, dass die Azeton- bzw. Acetylgruppenkonzentration im Laufe des Tages tendenziell zunimmt, da bereits in vorangegangenen Untersuchungen eine Erhöhung dieses Peaks im Laufe eines Tages festgestellt wurde. Auch in den für diese Versuchsreihe aufgenommenen Spektrogrammen ist dieser Sachverhalt sichtbar. Ursache dafür können Stoffwechseländerungen des Probanden sein. Ein ähnliches Verhalten tritt auch bei anderen Peaks auf (Peak 14). Deren leichte Intensitätsunterschiede basieren wahrscheinlich auf der Tatsache, dass die Messungen an zwei verschiedenen Messtagen aufgenommen wurden. Am Beispiel von Peak 14 wird erkennbar, dass deren Konzentration im Laufe des Tages ansteigen. In Ausatemluft 3 bildet der Peak eine Intensität von 0,093 V aus. Beim direkten Vergleich mit Ausatemluft 2 fällt auf, dass die Substanz schon nach 105 min in erhöhter Konzentration über die Lunge

ausgeschieden wird. Andere Peaks wiederum weisen ein gegenteiliges Verhalten auf (z. B. Peak 11). Die Intensitäten sinken im Laufe eines Tages. Das Absinken der Intensität dieser Peaks bedeutet, dass um 13.15 Uhr eine geringere Konzentration dieser Substanz über die Ausatemluft ausgeschieden wurde, als es um 11.30 Uhr desselben Tages der Fall war. Häufig war das Peakverhalten der Peaks 5 und 8 zu beobachten. Die Intensitäten dieser Peaks ähneln sich stark bzw. sind in den Spektrogrammen identisch. Die Konzentration dieser und ähnlicher Substanzen verändert sich im Laufe eines Tages nur minimal oder gar nicht. Selbst die Tatsache, dass die Spektrogramme an unterschiedlichen Tagen aufgezeichnet wurden, spielt bei diesen Peaks keine Rolle. Die beschriebenen Intensitätsveränderungen der Peaks resultieren aus dem Stoffwechsel des Probanden.

Auch zwischen den drei GC-IMS-Spektrogrammen der Ausatemluft können deutliche Unterschiede festgestellt werden. Wie auch in den Raumluft-Spektrogrammen fällt besonders die hohe Anzahl an Peaks in Ausatemluft 40 °C auf. Diese ist mehr als doppelt so groß, wie die der Peaks in Ausatemluft 1 (DMS). Ein ähnlicher Sachverhalt stellte sich bei der Analyse des Spektrogramms Raumluft 40 °C heraus. Die hohe Anzahl an Peaks in den GC-IMS-Spektrogrammen scheint damit eindeutig nur mit der Temperatur der GC-Säule in Verbindung zu stehen. Ursache dafür können auch hier Verunreinigungen der GC-Säule (zum RIP parallele Balken) sein, die eine Vielzahl von Peaks produzieren. Es könnte aber auch sein, dass diese GC-Säulentemperatur von 40 °C ein optimales Arbeiten der GC-Säule für diese beiden komplexen Stoffgemische nicht ermöglicht. Das speziell bei diesen Messungen stark zunehmende Grundrauschen des Spektrometers erzeugt weitere Peaks. Die Wahl einer GC-Säulentemperatur von 40 °C stellt sich aus diesen Gründen wiederum als nicht geeignet heraus.

Die Erhöhung der GC-Säulentemperatur beeinflusste die Menge an analysierten Substanzen anscheinend nicht. Die Anzahl an Peaks in den GC-IMS- und DMS-Spektrogrammen ist ebenfalls ähnlich. Es ist dennoch zu beachten, dass die GC-Säule des GC-IMS-Prototypen sehr anfällig für Verschmutzungen ist. Das Grundrauschen und der Einfluss geräteinterner Pumpen sind hoch. Diese Faktoren erzeugen zusätzliche Peaks in den Spektrogrammen. Es wird davon ausgegangen, dass die Anzahl an tatsächlich durch Substanzen der Ausatemluft erzeugten Peaks geringer ist, als durch Klassifizierungssoftware ermittelt.

Der Einfluss der Luftfeuchte in den GC-IMS-Spektrogrammen des Ausatemluft nimmt, wie bei den Messungen der Raumluft auch, mit zunehmender GC-Säulentemperatur ab. Der Luftfeuchte-Peak wurde, analog der Auswertung der Raumluft-Spektrogramme, von der Klassifizierungssoftware nicht analysiert.

Die Intensitäten vieler Peaks sind innerhalb der drei GC-IMS-Spektrogramme minimal unterschiedlich (z. B. Peak 1 und Peak 3). Es wird angenommen, dass es sich bei Peak 3 um den Azeton- bzw. Acetylgruppen-Peak handelt, da dieser Peak in den GC-IMS-Spektrogrammen am stärksten und nach einer kurzen Retentionszeit ausgebildet ist. Im Vergleich zu Peak 1 bzw. dem Acetylgruppen-Peak der DMS-Spektrogramme der Ausatemluft zeigen sich Gemeinsamkeiten. Im Grunde genommen verhalten sich Peak 3 der GC-IMS- und Peak 1 der DMS-Spektrogramme gleich. Die Werte der Intensitäten des Peaks 3 sind lediglich höher. Der Azeton- bzw. Acetylgruppen-Peak tritt in allen Spektrogrammen nach einer kurzen Retentionszeit auf. Es ist deutlich erkennbar, dass die Intensität des Azeton- bzw. Acetylgruppen-Peaks nicht in Abhängigkeit der Erhöhung der Temperatur der GC-Säule steigt. Offensichtlich ist, dass der beeinflussende Faktor für das Ansteigen der Intensität die Erhöhung der Substanzkonzentration in der Ausatemluft ist. Ein ähnliches Verhalten weisen weitere Peaks mit geringen Retentionszeiten auf.

Das Verhalten einiger Peaks (beispielsweise Peak 4 und Peak 20) lässt darauf schließen, dass eine unterschiedliche Substanzkonzentration an den beiden Messtagen auftrat. Diese kann durch Nahrungsaufnahme des Probanden oder durch Veränderung des Stoffwechsels bedingt sein. Zwischen den Spektrogrammen Ausatemluft 80 °C und 100 °C ist ein leichter Anstieg der Peakhöhe zu beobachten. Dieser begründet sich nur durch Erhöhung der Substanzkonzentrationen in der Ausatemluft durch Stoffwechseländerungen.

Beim Vergleich der GC-IMS-Spektrogrammen wurde mehrfach festgestellt, dass eine Verschiebung der Peaks in Richtung der Retentionszeit und eine minimale Verschiebung in Richtung der Kompensationsspannung auftritt. Peak 6 (siehe Tabelle 26) und Peak 48, der nicht in Tabelle 26 beschrieben wird, verdeutlichen diesen Sachverhalt beispielhaft. Die Intensität des Peaks 48 ähnelt der des Peaks 6, daher wird

angenommen, dass es sich um den gleichen Substanz-Peak handelt, der allerdings in positiver Richtung der Retentionszeit und minimal in Richtung der Kompensationsspannung verschoben ist. Aufgrund dieses Sachverhalts wird vermutet, dass sich die Retentionszeit mit Zunahme der GC-Säulentemperatur verkürzt.

Die GC-IMS-Spektrogramme der Ausatemluft ähneln den DMS-Spektrogrammen bezüglich der Anzahl der Peaks. Es kann festgestellt werden, dass das Verhalten einiger Peaks (Peak 3) der GC-IMS-Spektrogramme dem Verhalten einiger Peaks (Peak 1) der DMS-Spektrogramme gleicht. Die Spektrogramme der im Versuch verwendeten Spektrometer können nur bedingt direkt miteinander verglichen werden. Die Spektrogramme des GC-IMS-Prototypen unterscheiden sich untereinander aufgrund der verschieden gewählten Temperaturen zur isothermen Beheizung der GC-Säule. Die GC-IMS-Spektrogramme wurden präziser, je höher die GC-Säulentemperatur definiert wurde. Von einer GC-Säulentemperatur von 40 °C wird abgeraten, da durch Verschmutzungen sowohl bei den Messungen der Raumluft als auch der Ausatemluft gehäuft Peaks detektiert wurden. Genau diese Peaks könnten für die Analyse der Spektrogramme entscheidende Peaks verdecken. Das Grundrauschen der GC-IMS-Spektrogrammen ist bei einer GC-Säulentemperatur von 40 °C stark. Entscheidende Substanz-Peaks können durch die Klassifizierungssoftware schlecht vom Grundrauschen differenziert werden. Daraus resultierend wird eine große Anzahl auszuwertender Peaks (Substanz-Peaks und eine Vielzahl durch das Grundrauschen erzeugte Peaks) durch die Klassifizierungssoftware ermittelt. Weitaus vielversprechender sehen die GC-IMS-Spektrogramme, die mit einer Säulentemperatur von 80 °C oder 100 °C aufgenommen wurden, aus. Auf dieser Basis kann eine Weiterentwicklung des GC-IMS erfolgen. Dafür gibt es verschiedene Möglichkeiten. Unter Verwendung einer längeren GC-Säule und eines anderen GC-Säulen-Typen könnten die Spektrogramme hinsichtlich der Trennung der Substanzen verbessert werden. Zusätzlich könnte diese GC-Säule mit einer Temperaturkurve, ähnlich der des microAnalyzers™, beheizt werden. Außerdem sollten andere interne Pumpen verbaut werden, die sich nicht, wie die bisher verwendeten Pumpen, auf die Spektrogramme bzw. deren Hintergrundrauschen auswirken. Ob diese Veränderungen tatsächlich zu den angestrebten Verbesserungen führen, muss in weiteren Messungen unter Einsatz eines dementsprechend angepassten Prototyps untersucht werden.

5.4 Messung des Headspace von mit Mykobakterien beimpften Nährböden mittels DMS und GC-IMS

Dieses Kapitel dient der Diskussion der unter 4.4 präsentierten Ergebnisse.

5.4.1 DMS-Spektrogramme

Die Spektrogramme der Nährböden der Abbildung 46 beinhalten eine Vielzahl an Peaks, die aufgrund der Inhaltsstoffe der Nährböden (siehe 3.4.1.2) und der MB-Bouillon erzeugt wurden. Bei Betrachtung der Spektrogramme wird ersichtlich, dass sich die Zusammensetzung des Headspace der unbeimpften Nährböden in den HEYM-Röhrchen während der Inkubation von vier Wochen nur minimal verändert. Diese Veränderungen treten aufgrund von Alterungsprozessen auf. Die HEYM-Röhrchen sind bei Kühlung (2 - 8 °C) im Dunkeln bis zu 12 Monate haltbar, inkubiert allerdings nur bis zu 16 Wochen. [BD2013] Die optischen Unterschiede zwischen den beiden Spektrogrammen bestätigen sich bei der Betrachtung der durch die Klassifizierungssoftware ermittelten Peaks.

Die Spektrogramme des Headspace der mit Bakterienkultur beimpften HEYM-Röhrchen weisen im Vergleich zu den Spektrogrammen der unbeimpften Nährmedien weisen Unterschiede auf. Auch hier nehmen die Intensitäten einiger Peaks ab, die anderer Peaks hingegen nehmen zu. Ursache dafür ist, dass die Bakterien mit wachsender Population bestimmte Inhaltsstoffe der Nährböden zunehmend verbrauchen und aufgrund ihres Stoffwechsels auch zunehmend neue Substanzen erzeugen. Inwiefern die Inhaltsstoffe der Nährböden das Bakterienwachstum beeinflussen, kann in Quelle [BD2013] nachgelesen werden.

Bei Betrachtung der Anzahl der Peaks in den jeweiligen Spektrogrammgruppen bestätigen sich die ersten, in den vorangegangenen Ausführungen beschriebenen optischen Eindrücke.

Die Anzahl der Peaks ist in den Spektrogrammgruppen Nährboden 2 W und Bakterien 2 W ähnlich. Nach vier Wochen Inkubation der HEYM-Röhrchen sind in den Spektrogrammen der Nährböden bereits sieben weitere Peaks feststellbar. Grund dafür ist das Altern des Nährmediums. In der Spektrogrammgruppe Bakterien 4 W wurden sogar 11 weitere Peaks ermittelt. Diese Veränderungen resultieren aus dem Stoffwechsel der Bakterien und der wachsenden Bakterienpopulation.

Einige der Peaks bildeten sich nur in den Spektrogrammgruppen Bakterien 2 W und Bakterien 4 W aus (z. B. Peak 43). In der Boxplot-Darstellung des Peaks 43 ist ersichtlich, dass der Quartilsabstand des Boxplots von Bakterien 2 W sowie Bakterien 4 W sehr groß ist. Die Intensitäten des Peaks in den einzelnen Spektrogrammen der Spektrogrammgruppen variieren sehr. Die Hälfte der Intensitäten dieses Peaks in den Spektrogrammen der beiden Spektrogrammgruppen nehmen jedoch jeweils Werte unter und über dem Median von 0,0055 V an. Es wird angenommen, dass Substanzen, wie die Peak 43 erzeugende Substanz, durch die Bakterien produziert werden. Mit Zunahme der Bakterienzahl erhöht sich auch die Konzentration dieser Substanzen in der Luftprobe. Weitere Peaks weisen ein anderes Peakverhalten auf (Peak 31). Aufgrund des fortschreitenden Alters der Nährböden nehmen die Intensität der Peaks und damit die Konzentration dieser Substanzen leicht ab. In Bakterien 2 W sind die medianen Werte der Intensität niedriger als in Nährboden 2 W. In Bakterien 4 W steigen diese wiederum an. Die Quartilsabstände der Boxplots sind besonders in Bakterien 2 W und Bakterien 4 W klein. Die Intensitäten der Peaks sind innerhalb der jeweiligen Spektrogrammgruppen ähnlich. Es wird angenommen, dass derartige Substanzen, wie die Peak 31 erzeugende Substanzen, bzw. Nährstoffe in der Anfangsphase ihrer Vermehrung durch die Bakterien zunehmend verbraucht werden. Mit Anwachsen der Bakterienpopulation nimmt dieser Wert minimal zu. Das unterstreicht die bisherige Annahme, dass die Bakterien durch ihren Stoffwechsel Substanzen in geringen oder auch größeren Konzentrationen selbst erzeugen.

Die Intensitäten anderer Peaks und die damit einhergehenden Konzentrationen dieser Substanzen in den Nährboden-Spektrogrammen verändern sich innerhalb von zwei Wochen nur minimal (z. B. Peak 33). Für die Bakterien-Spektrogrammgruppen stellt sich der Sachverhalt anders dar. Die Intensitätswerte dieser Peaks nehmen von Bakterien 2 W zu Bakterien 4 W ab. Im Vergleich zu Nährboden 2 W besitzen die

Intensitäten der Peaks in Bakterien 2 W größere Werte. Durch das Beimpfen des Nährbodens mit der Bakterienkultur werden die Peak verursachenden Substanzen in höherer Konzentration detektiert. Es wird angenommen, dass die Bakterien die Substanzen in der Anfangsphase ihrer Vermehrung in erhöhter Konzentration durch ihren Stoffwechsel produzieren. Mit Anwachsen und zunehmendem Alter der Bakterienpopulation nehmen die Werte wieder ab. Die Bakterien verbrauchen durch ihren Stoffwechsel die im Nährboden vorhandenen Substanzen.

Ein weiteres Peakverhalten, was zu beobachten ist, ist das des Peaks 42. Die Intensität der jeweiligen Peaks steigt sowohl von Nährboden 2 W zu Nährboden 4 W als auch von Bakterien 2 W zu Bakterien 4 W an. Die Konzentrationen der Substanzen steigen mit zunehmendem Alter des Nährbodens an. Die Intensitätszunahme der Peaks ist innerhalb der Bakterien-Spektrogrammgruppen deutlicher ausgeprägt als innerhalb der Nährboden-Spektrogrammgruppen. Der Anstieg der Intensitäten von Bakterien 2 W zu Bakterien 4 W resultiert somit wahrscheinlich nicht nur aus der Alterung des Nährbodens, sondern auch aus der Vermehrung der Bakterien und deren Stoffwechsel. Es wird angenommen, dass die Bakterien die bereits im Nährboden vorhandenen Substanzen besonders in der Anfangsphase ihrer Vermehrung aufgrund ihres Stoffwechsels in höherer Konzentration verbrauchen. Diese Annahme bestätigt sich durch den wesentlich geringeren Intensitätswert des Peaks 42 in Bakterien 2 W (0,0075 V) im Vergleich zu dem Intensitätswert in Nährboden 2 W (0,0165 V). Mit Anwachsen und Alter der Bakterienpopulation nimmt bei diesem Peak dieser Wert zu. Auch durch das Verhalten dieses Peaks bestätigt sich die Annahme, dass die Bakterien Substanzen durch ihren Stoffwechsel zusätzlich produzieren.

5.4.2 GC-IMS-Spektrogramme

Die GC-IMS-Spektrogramme des Headspace aus den unbeimpften HEYM-Röhrchen beinhalten, wie die DMS-Spektrogramme des microAnalyzers™ auch, eine Vielzahl an Peaks, die aus den Inhaltsstoffe der Nährböden (siehe 3.4.1.2) und der MB-Bouillon resultieren. Bei der Betrachtung der GC-IMS-Spektrogramme wird ersichtlich, dass sich die Zusammensetzung der Proben-Zusammensetzung nach zwei bzw. vier Wochen minimal verändert hat. Es ist erkennbar, dass einige Substanzen nach einer Inkubation von vier Wochen geringer ausgebildet werden. Andere Peaks bilden sich nach der vierwöchigen Lagerung verstärkt aus. Desweiteren sind Unterschiede zwischen den Spektrogrammen der unbeimpften und den beimpften Nährmedien deutlich zu erkennen. Das gleiche Verhalten wurde auch bei den DMS-Spektrogrammen festgestellt. Die genaue Betrachtung der einzelnen Peaks bestätigt diesen optischen Eindruck.

Im Vergleich der GC-IMS-Spektrogramme mit den in Abbildung 46 dargestellten DMS-Spektrogramme des microAnalyzers™ zeigen sich deutliche Unterschiede. Diese begründen sich durch die Unterschiede der beiden Spektrometer in ihrem Aufbau, der Art der Bauelemente und der Detektion. Die Substanz-Peaks verteilen sich in den DMS-Spektrogrammen über den gesamten Retentionszeitbereich. Die entscheidenden Peaks sind den GC-IMS-Spektrogrammen nur im oberen Retentionszeitbereich erkennbar, da die Länge der GC-Säule dieses Spektrometers nur 0,2 m beträgt. Im microAnalyzer™ erfolgt die Trennung der Substanzen mit Hilfe einer 10 m langen GC-Säule. Die Retentionszeit der Substanzen erstreckt sich deshalb über einen längeren Zeitraum.

Innerhalb der Spektrogrammen des GC-IMS-Prototypen treten Unterschiede im Grundrauschen auf. Das Grundrauschen dieser Spektrogramme ist teilweise so hoch. Dementsprechend hoch ist die Anzahl der ermittelten Peaks in den GC-IMS-Spektrogrammen. Durch Anheben des Schwellwertes der Klassifizierungssoftware kann diesem Effekt entgegengewirkt werden. Es wird angenommen, dass die tatsächliche Anzahl an reinen Substanz-Peaks wesentlich niedriger ist. In den GC-IMS-Spektrogrammen ist die Anzahl der Peaks für die Spektrogrammgruppen Nährboden 2 W und Bakterien 2 W unterschiedlich. Es wird angenommen, dass entweder vermehrt Peaks bestimmt wurden, die normal dem Grundrauschen zuzuordnen

sind, und/oder dass durch die Bakterien Nährstoffe verstärkt verbraucht wurden. Die Anzahl der Peaks in den GC-IMS-Spektrogrammen ist der in den DMS-Spektrogrammen nur bedingt ähnlich.

Nach vier Wochen Inkubation ist sowohl in den Nährboden-Spektrogrammen (Nährboden 4 W) als auch in den Bakterien-Spektrogrammen (Bakterien 4 W) eine deutlich höhere Anzahl an Peaks feststellbar. Bei Betrachtung der entsprechenden Spektrogramme in Abbildung 51 wird ersichtlich, dass Verunreinigungen in Form von zum RIP paralleler Balken auftreten, die sich über das gesamte Spektrogramm erstrecken. Die Verunreinigungen der GC-Säule und der IMS-Messzelle sind verantwortlich dafür, dass zusätzliche Peaks durch die Klassifizierungssoftware ermittelt und fälschlicherweise als separate Substanz-Peaks deklariert werden. Gleichzeitig ist, wie bereits erwähnt, das Grundrauschen dieser Spektrogramme stark ausgeprägt. Aus den genannten Gründen ist es schwierig, die genaue Anzahl der Substanz-Peaks des Headspace zu bestimmen.

Bei Betrachtung einzelner Peaks sind verschiedene Verhaltensmuster der Peaks zu beobachten. Einige Peaks zeigen, dass sich mit zunehmendem Alter des Nährbodens die Konzentration dieser Substanzen erhöht. Ein Beispiel dafür ist Peak 1. Die Intensität des Peaks steigt sowohl von Nährboden 2 W zu Nährboden 4 W als auch von Bakterien 2 W zu Bakterien 4 W an. Der Anstieg der Intensität dieses Peaks von Bakterien 2 W zu Bakterien 4 W resultiert einerseits aus der Alterung des Nährbodens und andererseits aus der Erhöhung der Substanzkonzentration durch den Stoffwechsel von Bakterien und deren Vermehrung. In diesem Fall muss zusätzlich beachtet werden, dass für die Spektrogrammgruppen Nährboden 4 W und Bakterien 4 W eine stark erhöhte Anzahl an Peaks ermittelt wurde (siehe Tabelle 29). Diese kann aus Verunreinigungen des Spektrometers resultieren. Da Peak 1 nicht nach zwei, sondern erst nach vier Wochen in den Spektrogrammen auftritt, kann dieser Peak auch in Verunreinigungen des Spektrometers begründet sein. Dennoch ist das beschriebene Peakverhalten häufig zu beobachten.

Ein weiteres mehrmals auftretendes Verhalten ist das des beschriebenen Peaks 2. Durch das Fortschreiten des Alters der Nährböden nimmt die Konzentration dieser Substanz

geringfügig ab. Der mediane Intensitätswert der Spektrogrammgruppe Bakterien 2 W des Peaks 2 ist niedriger als in Nährboden 2 W. Die Intensität des Peaks steigt jedoch von Bakterien 2 W zu Bakterien 4 W an. Bei Betrachtung der Boxplot-Darstellung des Peaks 2 (Abbildung 53) bezüglich der Gruppen Bakterien 2 W und Bakterien 4 W wird ersichtlich, dass der Quartilsabstand der beiden Boxplots unterschiedlich stark ausgeprägt ist. In der Spektrogrammgruppe Bakterien 2 W ist mindestens in ein Spektrogramm enthalten, in dem Peak 2 einen Wert von 0 V annimmt. Desweiteren erreicht die Intensität des Peaks 2 mindestens einem Spektrogramm dieser Spektrogrammgruppe einen Wert von 1,4 V. Eine mögliche Begründung für derartige Intensitätsunterschiede eines Peaks innerhalb einer Spektrogrammgruppe lässt sich nicht eindeutig definieren. Dieses Verhalten wiederholt sich bei anderen Peaks. Eine Erklärung dafür wäre, dass Messungenauigkeiten innerhalb des GC-IMS-Prototypen aufgetreten sind. Im Gegensatz dazu sieht das Boxplot zur Darstellung der Intensitäten des Peaks 2 innerhalb der Gruppe Bakterien 4 W anders optimal aus. Der Quartilsabstand dieses Boxplots ist klein. Die Intensitätswerte liegen alle im Bereich des Medians. Das Verhalten von Peak 2 lässt darauf schließen, dass einige Substanzen in der Anfangsphase der Vermehrung der Bakterien überwiegend verbraucht werden. Mit Anwachsen der Bakterienpopulation nehmen die Intensitätswerte minimal zu. Die Bakterien scheinen auch hier diese Substanz durch ihren Stoffwechsel in geringen Konzentrationen zu erzeugen. Das Verhalten des Peaks 2 ähnelt dem des Peaks 31 der DMS-Spektrogramme.

Peak 12 weist eine andere Form von Intensitätsänderungen innerhalb der Spektrogrammgruppen auf. Auch dieser Peak ist ein Beispiel für weitere in den Spektrogrammen erzeugte Peaks. Der mediane Intensitätswert steigt von Nährboden 2 W zu Nährboden 4 W an. Auch zwischen Bakterien 2 W und Bakterien 4 W erhöht sich der Intensitätswert. Die Konzentration der Substanz, die Peak 12 in den Spektrogrammen erzeugt, erhöht sich mit steigender Bakterienpopulation. Es liegt eine Substanz vor, die ursprünglich in dem Headspace der Nährboden vorhanden ist und zusätzlich durch die Bakterien produziert wird. Desweiteren ist zu beachten, dass zwischen Nährboden 2 W und Nährboden 4 W ein ähnlicher Anstieg zu verzeichnen ist. Das Alter des Nährbodens scheint damit auch die Intensität dieses Peaks in Bakterien 4 W zu beeinflussen. Peak 12 ist mit Peak 43 der DMS-Spektrogramme vergleichbar.

Peak 18 ist ein Beispiel für das Absinken der Intensität eines Peaks mit fortschreitendem Alter der Probe. Die Intensität des Peaks 18 nimmt sowohl von Nährboden 2 W zu Nährboden 4 W als auch von Bakterien 2 W zu Bakterien 4 W ab. Zwischen den einzelnen Spektrogrammen der Spektrogrammgruppen Nährboden 2 W und Nährboden 4 W ist eine große Differenz der Intensitäten des Peaks 18 feststellbar. Der Quartilsabstand der beiden Boxplots ist sehr groß. Die Unterschiede in den Intensitäten des Peaks resultieren aus demselben Sachverhalt, wie er bereits für Peak 2 erläutert wurde. In beiden Spektrogrammgruppen treten mindestens zwei Spektrogramme auf, in denen Peak 18 eine Intensität von 0 V besitzt. Dieses Problem stellte sich nur bei dem GC-IMS-Prototypen heraus, daher wird vermutet, dass geräteinterne Fehler vorliegen. Diese sind in weiteren Versuchen zu analysieren. Daher wird angenommen, dass die Intensität des Peaks 18 von Nährboden 2 W zu Nährboden 4 W geringfügig sinkt. Das Absinken der Intensitäten einiger Peaks wurde auch in den DMS-Spektrogrammen der Nährböden häufiger beobachtet als ein Ansteigen der Intensitäten. Deshalb wird auch hier davon ausgegangen, dass Peak 18 ein solches Verhalten aufweist.

Peak 18 weist in Bakterien 2 W eine geringfügig höhere Intensität auf als in Nährboden 2 W. Daraus kann abgeleitet werden, dass die Bakterien zu Beginn ihrer Vermehrung diese Substanz in geringen Konzentrationen selbst produzieren. Vier Wochen nach Beimpfung der HEYM-Röhrchen mit der Bakterienkultur wird die Substanz nicht mehr detektiert. Die Bakterien haben anscheinend diese Substanz innerhalb von 4 Wochen vollständig verbraucht. In Bakterien 2 W beträgt der mediane Intensitätswert des Peak 18 0,19 V, während er in Bakterien 4 W nicht registriert. Die Konzentration der Substanz nimmt innerhalb der beiden Spektrogrammgruppen bzw. mit Zunahme der Anzahl an Bakterien ab.

Die Ergebnisse dieses Versuchs sind zufriedenstellend. Ein direkter Vergleich der Spektrogramme des DMS und des GC-IMS-Prototypen ist nicht möglich. Trotzdem können zwischen den Spektrogrammen der verwendeten Spektrometer bzw. den darin befindlichen Peaks Parallelen festgestellt werden.

Abschließend wird festgestellt, dass sich die Spektrogramme der Nährböden nach zwei und vier Wochen insgesamt ähnlich sind und sich nur geringfügig voneinander

unterscheiden. Durch die Beimpfung der Nährböden mit der Bakterienkultur wurden einige der Inhaltsstoffe der Nährböden verstoffwechselt. Dadurch nahmen einige Substanzkonzentrationen in den Spektrogrammen ab. Im Gegensatz dazu nahmen andere Substanzkonzentrationen zu, da die Bakterien durch ihren Stoffwechsel selbst Substanzen produzieren. Sowohl mit dem microAnalyzer™ als auch mit dem GC-IMS-Prototypen der Firma STEP konnten Spektrogramme der Nährböden und Bakterien erzeugt werden, die unter Einsatz der Klassifizierungssoftware voneinander differenziert werden konnten. Mit beiden Geräten war es möglich, Unterschiede in den Spektrogrammen zwei bzw. vier Wochen nach der Beimpfung zu ermitteln. Die Bakterienpopulation steigt mit zunehmendem Alter der beimpften Nährböden an. In Zusammenhang damit werden mehr Substanzen verbraucht oder erzeugt.

Der Versuch hat gezeigt, dass mit dem microAnalyzer™ im Vergleich zum GC-IMS-Prototypen präzisere Spektrogramme erzeugt werden können. Obwohl in beiden Spektrometern eine GC-Säule zur Vortrennung der Substanzen verwendet wird, erzielt der microAnalyzer™ eine deutlich bessere Trennung der einzelnen Substanzen. Die Länge und das Temperaturprogramm der GC-Säule führen zu einer besseren Trennung der Luftprobe in ihre Einzelsubstanzen. Das verwendete Temperaturprogramm der GC-Säule ermöglicht die Minimierung von Verunreinigungen, die das Messergebnis negativ beeinflussen können. Die kurze GC-Säule des GC-IMS-Prototypen und deren isotherme Beheizung sind Ursache für ungenaue Spektrogramme. Durch die Analyse von Proben hoher Substanzkonzentrationen ist die GC-Säule schnell überladen. Dadurch bilden sich in den Spektrogrammen zum RIP parallele Verunreinigungen aus und erschweren die Auswertung. Durch Verwendung einer anderen GC-Säule kann diesem Effekt entgegen gewirkt werden. In weiteren Versuchen ist zu ermitteln, welche GC-Säulen-Art und welches Temperaturprogramm zu optimalen Messergebnissen führen.

Durch das niedrige Grundrauschen des microAnalyzers™ können Substanzpeaks deutlich besser bestimmt werden. Das Grundrauschen des GC-IMS ist im Vergleich dazu sehr hoch. Dieses wird stark durch geräteinterne Pumpen beeinflusst.

Durch den microAnalyzer™ wird ein Probenvolumen von 20 ml analysiert, das mit einer TRAP angereichert wird. Die Analyse des Probengases ist daher genauer. Die Probennahme des GC-IMS-Prototypen erfolgt durch eine Probenschleife, deren

Volumen niedrig ist. Eine größere Probenmenge könnte zu exakteren Spektrogrammen beitragen.

Das GC-IMS scheint zeitweise nicht konstant zu messen. Bei der Auswertung der Peaks durch die Klassifizierungssoftware stellte sich heraus, dass einige Peaks in den GC-IMS-Spektrogrammen einer Spektrogrammgruppe nicht immer nachgewiesen werden konnten. Weitere Untersuchung zur Bestätigung und zur Beseitigung dieser Problematik sollten durchgeführt werden.

Für die Auswertung der Spektrogramme des microAnalyzers™ steht eine Klassifizierungssoftware zur Verfügung. Für das GC-IMS ist das nicht der Fall. Daher müssen die GC-IMS-Spektrogramme in die Form der DMS-Spektrogramme überführt werden, um diese mittels der Klassifizierungssoftware zu bearbeiten. Durch die Datentransformation wird die für GC-IMS-Spektrogramme entscheidende Driftzeit in die Kompensationsspannung umgewandelt. Dieser Sachverhalt ist falsch, weil in dem GC-IMS keine Kompensationsspannung verwendet wird. Voraussetzung für die korrekte Auswertung der GC-IMS-Spektrogramme ist die Entwicklung einer separaten Klassifizierungssoftware.

6 Zusammenfassung und Ausblick

Der Vergleich der Spektrogramme der IMS, der provisorischen GC-IMS-Kopplung und des GC-IMS-Prototypen hat gezeigt, dass eine GC-Säule Voraussetzung für die Trennung zu detektierender Substanzen besonders für komplexe Stoffgemische, wie Ausatem- oder Raumluft, ist. Für die Analyse der Ausatemluft von Probanden kann kein reines IMS verwendet werden, da die hohe Luftfeuchtigkeit der Ausatemluft die Spektrogramme negativ beeinflusst. Das IMS kann vorwiegend nur zur Detektion bekannter Substanzen, wie Toluol, Azeton usw., verwendet werden. Für die Analyse der Ausatemluft können die GC-IMS-Kopplungen verwendet werden. Im Vergleich zu dem provisorischen GC-IMS-Aufbau wurde der Prototyp bezüglich der Probennahme weiterentwickelt und wesentlich verbessert. Es ist erforderlich, die Leistung dieses Spektrometers durch Weiterentwicklung deutlich zu steigern. Die Probennahme und die Trennung der Substanzen durch die GC-Säule können durch die Verwendung einer beheizten Probenschleife und eines anderen GC-Säulentyps optimiert werden.

Die zweite Versuchsreihe zeigte, dass die DMS- und die Spektrogramme des provisorischen GC-IMS nicht direkt miteinander vergleichbar sind. Die Spektrogramme der GC-IMS-Kopplung unterscheiden sich bezüglich ihrer Form stark zu den DMS-Spektrogrammen. Der Versuch bestätigte, dass die GC-Säulentemperatur die Spektrogramme bzw. die darin befindlichen Peaks in ihrer Retentionszeit entscheidend beeinflusst. Durch Änderung der GC-Säulentemperatur verkürzt oder verlängert sich die Retentionszeit bestimmter Substanzen. Substanzeigenschaften, wie Molekülgröße und Siedetemperatur, sind für das Retentionszeitverhalten der Substanzen verantwortlich. Die Wahl der richtigen GC-Säulentemperatur ist für die Erzeugung der Spektrogramme entscheidend. Während die Peaks der GC-IMS-Spektrogramme eine positive Verschiebung in Richtung der Retentionszeit aufweisen, werden die Peaks in den DMS-Spektrogramme mit erhöhter GC-Säulentemperatur eher detektiert.

Für die DMS-Spektrogramme isothermer GC-Säulentemperatur konnte eine größere Anzahl Peaks ermittelt werden, als in den DMS-Spektrogrammen mit variabler GC-Säulentemperatur. Der Versuch sollte mit identischen Probenahmezeiten wiederholt werden, um den Einfluss der Dauer der Probenahme auf die DMS-Spektrogramme zu

untersuchen. Insgesamt sind die DMS-Spektrogramme aussagekräftiger und können exakter ausgewertet werden als die GC-IMS-Spektrogramme. Die Spektrogramme der provisorischen GC-IMS-Kopplung werden von vielen Faktoren negativ beeinflusst, besonders von Verunreinigungen der IMS-Messzelle und der GC-Säule. Die Verwendung anderer bzw. stärkerer Pumpen und ein regelmäßiges Ausheizen sowie Spülen der GC-Säule können Verunreinigungen entgegenwirken. Ein weiteres Problem der provisorischen GC-IMS-Kopplung ist die Probenahme. Aufgrund der permanenten Luftzufuhr wird nicht nur die Probe sondern auch die nachgeführte Luft analysiert. Mögliche wichtige Peaks werden überlagert. Die Probe sollte deshalb definiert und begrenzt werden, beispielsweise mit Hilfe einer Probenschleife. Der Versuch hat gezeigt, dass die GC-IMS-Kopplung optimiert werden muss, um präzise Spektrogramme der Ausatemluft erzeugen zu können. Eine aus diesem Versuch hervorgegangene Weiterentwicklung ist der GC-IMS-Prototyp der Firma STEP, der Hauptbestandteil des Versuchs „Untersuchungen von Proben mit Hilfe der DMS und des GC-IMS der Firma STEP“ war.

Die Spektrogramme der Ausatemluft des GC-IMS-Prototypen ähneln den DMS-Spektrogrammen bezüglich der ermittelten Anzahl an Peaks. Einige Peaks der Spektrogramme dieser beiden Spektrometer weisen sogar ein ähnliches Verhalten auf. Zwischen den Spektrogrammen bestehen Parallelen. Die Spektrogramme der Spektrometer können allerdings nicht direkt verglichen werden, da die Geräte sich in ihrem Aufbau, z. B. der Art der GC-Säule und der Detektion, enorm unterscheiden.

Für die Messungen mit dem GC-IMS-Prototypen wurden unterschiedliche GC-Säulentemperaturen gewählt. Daher unterscheiden sich die Spektrogramme voneinander. Je höher die GC-Säulentemperatur gewählt wurde, desto genauer stellten sich die Spektrogramme dar. Von einer GC-Säulentemperatur von 40 °C wird abgeraten, da gehäuft Peaks durch Verschmutzungen u. ä. auftreten. Für die Analyse entscheidende Peaks werden überlagert. Außerdem nimmt das Grundrauschen in den Spektrogrammen bei dieser GC-Säulentemperatur stark zu, dadurch können Substanz-Peaks durch die Klassifizierungssoftware nicht vom Grundrauschen differenziert werden. Die GC-IMS-Spektrogramme, die mit einer Säulen-Temperatur von 80 °C oder 100 °C erzeugt wurden, sehen sehr vielversprechend aus. Auf dieser Grundlage kann das GC-IMS weiterentwickelt werden. Durch den Einsatz eines anderen GC-Säulen-

Typs und einer längeren GC-Säule könnten Verbesserungen der Spektrogramme erzielt werden. Die GC-Säule könnte zusätzlich mit einer Temperaturkurve, ähnlich der des microAnalyzers™, beheizt werden. Die Verwendung einer beheizten Probenschleife könnte der Kondensation einiger Substanzen entgegenwirken, sodass eine Analyse aller in der Probe befindlichen Substanzen erfolgt. Die Kondensation wirkt sich vor allem bei der Analyse der Ausatemluft auf die Spektrogramme aus. Zusätzlich sollte das Volumen der Probenschleife erhöht werden, um eine größere Probenmenge analysieren zu können. Um den Einfluss interner Pumpen auf die GC-IMS-Spektrogramme bzw. auf das Hintergrundrauschen deutlich zu reduzieren, sollten geeignetere Pumpen verbaut werden. In weiteren Versuchen sollte geprüft werden, ob die vorgenannten Änderungen zu den angestrebten Verbesserungen führen.

Der Versuch „Messung des Headspace von mit Mykobakterien beimpften Nährböden mittels DMS und GC-IMS“ zeigte, dass sowohl mit microAnalyzer™ als auch mit GC-IMS-Prototyp der Firma STEP eine deutliche Trennung zwischen unbeimpften und beimpften Nährböden möglich ist. Die Spektrometer könnten für die Detektion von *M. paratuberculosis* bei Tieren bzw. deren Kot verwendet werden. Allerdings sind dafür weitere Studien erforderlich. Die Spektrogramme der unbeimpften Nährböden nach zwei und vier Wochen sind sich ähnlich und unterscheiden sich nur geringfügig voneinander. Durch die Beimpfung der Nährböden mit der Bakterienkultur wurden einige der Inhaltsstoffe der Nährböden verstoffwechselt. Dadurch nahmen einige Substanz-Peaks in den Spektrogrammen ab, andere hingegen nahmen zu. Es konnten deutliche Unterschiede zwischen den Spektrogrammen der Bakterien, die zwei und vier Wochen nach der Beimpfung analysiert wurden, festgestellt werden.

Ein direkter Vergleich der Spektrogramme des DMS und des GC-IMS-Prototypen ist nicht möglich. Dennoch können zwischen den Spektrogrammen und den darin befindlichen Peaks Parallelen festgestellt werden. Auch dieser Versuch bestätigte, dass die Spektrogramme des microAnalyzers™ aussagekräftiger und genauer sind als die des GC-IMS-Prototypen, und führt zu dem Schluss, dass eine Optimierung des GC-IMS-Prototypen erfolgen muss. Es ist erforderlich, eine spezifische Klassifizierungssoftware für eine korrekte Auswertung der GC-IMS-Spektrogramme zu entwickeln.

Zusammenfassend wird festgestellt, dass die Ionenmobilitätsspektrometrie in Form der differentiellen Ionenmobilitätsspektrometrie und der GC-IMS-Kopplung für den diagnostischen Zweck verwendet werden könnte. Dieser Sachverhalt muss durch weitere Versuchsreihen bewiesen werden. Beispiele für die Anwendung können die Analyse der Ausatemluft von Patienten aber auch die Detektion von Bakterienstämmen, wie MRSA, sein. Um diese Methode in der medizinischen Diagnostik etablieren zu können, ist es notwendig, ein funktionierendes Gerät mit höchstmöglicher Substanztrennung zu entwickeln. Der microAnalyzer™ der Firma Sionex stellt bereits ein solches Spektrometer dar. Mit der Entwicklung des GC-IMS ist der Firma STEP ein Schritt in die richtige Richtung gelungen. Bevor der Einsatz dieses Spektrometers in der medizinischen Diagnostik erfolgen kann, muss es weiterhin optimiert werden.

Der nächste Schritt ist die Optimierung des GC-IMS. Im Anschluss daran können Untersuchungen zur Detektion bestimmter Bakterienarten oder zur Erkennung bestimmter Erkrankungen des Organismus erfolgen. Ziel ist ein funktionierendes Gerät zur medizinischen Krankheitsfrühdagnostik zu entwickeln. Um dieses Ziel zu erreichen, ist es für die weitere Vorgehensweise unabdingbar, den Fokus und die Meilensteine klar zu definieren. Aufgrund der Komplexität der Ausatemluft und der großen Anzahl an Peaks ist es ratsam, zunächst „nur“ eine Erkrankung oder eine Bakterienart anhand der Spektrogramme eindeutig bestimmen zu können. Darauf aufbauend können anschließend weitere Erkrankungen u. ä. ermittelt werden. Auf diesem Weg kann die Ionenmobilitätsspektrometrie in der Medizin Einzug halten und der Krankheitsfrühdagnostik dienen.

Index

Software

Microsoft Corporation: Microsoft Office Word 2007

Microsoft Corporation: Microsoft Office Excel 2007

IBM SPSS Statistics, Version: 15.0.1

Literaturverzeichnis

- [Agil2007] Agilent Technologies, Inc.: Auswahlhilfe für Agilent J&W GC-Säulen: Unübertroffene Reproduzierbarkeit, Effizienz und Inertheit. - 2007 - 148 S.
URL:<<http://www.chem.agilent.com/Library/selectionguide/Public/5989-6159DEE.pdf>>
verfügbar am 18.02.2013
- [Agil2013] Agilent Technologies, Inc.: Charakteristika der in dem microAnalyzer™ verbauten GC-Säule
URL:<<http://www.chem.agilent.com/en-US/products-services/Columns-Sample-Preparation/GC-GC-MS-Columns/Capillary/DB-XLB/Pages/default.aspx>>
verfügbar am 23.03.2013
- [AlLe2013] Altomare, D. F.; Di Lena, M.; Porcelli, F.; Trizio, L.; Travaglio, E.; Tutino, M.; Dragonieri, S.; Memeo, V.; de Gennaro, G.:
Exhaled volatile organic compounds identify patients with colorectal cancer.
In: British Journal of Surgery, 2013; S. 100 – 151
- [BD2013] BD Diagnostics (Becton, Dickson and Company): BBL Herrold`s Egg Yolk Slant with MJ and ANV - Beipackzettel
URL:<[http://www.bd.com/ds/technicalCenter/inserts/8817831\(0804\).pdf#page=2&view=Fit](http://www.bd.com/ds/technicalCenter/inserts/8817831(0804).pdf#page=2&view=Fit)>
verfügbar am 18.02.2013
- [Bech2013] Becher, Gunther: Atemkondensat-Diagnostik (Exhalat-Diagnostik)
In: „Spezielle Lungenfunktionsprüfung“, Hrsg.: Prof. K.-H. Rühle, München: Dustri Verlag Dr. Karl Feistle, 2013, S. 105-124

- [BeHi2010] Becher, G.; Hillmann, A.; Kikowatz, A.; Graupner, R.; Purkhart, R.; Steinhäusser, W.; Marke, S.; Scharff, W.:
Differential Ion Mobility Spectrometry (DMS) for use in non invasive diagnostic from exhaled air.
Präsentation beim Kongress der European Respiratory Society (ERS), Barcelona, 19.09.2010
- [BeRo2005] Becher, G.; Rothe, M.; Decker, M.: Exhaled Breath Condensate (EBC): An alternative or additional Diagnostic?
In: Breath Analysis for Clinical Diagnosis and Therapeutic Monitoring. – World Scientific Publishing Company, 2005, S. 421-426
- [BS2013] B&S Analytik: Analyse der Ausatemluft des Menschen
URL: <<http://www.bs-analytik.de>>
verfügbar am 20.03.2013
- [Chem2013] Chemgaroo Educational Systems: Informationen zu Säulenbluten
URL:<http://www.chemgapedia.de/vsengine/tra/vsc/de/ch/3/anc/chromatographie1.tra/Vlu/vsc/de/ch/3/anc/croma/gc_detail1.vlu/Page/vsc/de/ch/3/anc/croma/gc/stat_phase/kapillarsaeule/anschaul/arten1m71te0201.vscml.html>
verfügbar am 23.03.2013
- [Doc12013] DocCheck Medical Services GmbH: Informationen zur Ausatemluft
URL: < <http://flexikon.doccheck.com/de/Atemluft>>
verfügbar am 21.03.2013
- [Doc2013] DocCheck Medical Services GmbH: Informationen zu Mycobacterium paratuberculosis
URL:
<http://flexikon.doccheck.com/de/Mycobacterium_paratuberculosis>
verfügbar am 18.02.2013

- [FLI2013] Friedrich-Loeffler-Institut (FLI) - Bundesinstitut für Tiergesundheit:
Nationales Referenzlabor für Paratuberkulose
URL:
<<http://www.fli.bund.de/de/startseite/institute/institut-fuer-molekulare-pathogenese/referenzlabore/nrl-fuer-paratuberkulose.html#top>>
verfügbar am 23.02.2013
- [Hill2010] Hillmann, Anne: Differenzielle Ionenmobilitätsspektrometrie als Methode zur Messung spezifischer Cluster von volatilen Substanzen in der Ausatemluft des Menschen. – 2010. - 81 S.
Mittweida, Hochschule Mittweida – University of Applied Sciences,
Fakultät Mathematik/ Naturwissenschaften/ Informatik,
Bachelorarbeit, 2010
- [Hill2012] Hillmann, Anne: Forschungs- und Entwicklungsmodul:
Untersuchungen zur differentiellen Ionenmobilitätsspektrometrie. –
2012. – 67 S.
Mittweida, Hochschule Mittweida – University of Applied Sciences,
Fakultät Mathematik/ Naturwissenschaften/ Informatik, Belegarbeit,
2012
- [Hillm2012] Hillmann, Anne: Forschungs- und Entwicklungsmodul:
Untersuchungen zur differentiellen Ionenmobilitätsspektrometrie II. –
2012. – 91 S.
Mittweida, Hochschule Mittweida – University of Applied Sciences,
Fakultät Mathematik/ Naturwissenschaften/ Informatik, Belegarbeit,
2012
- [KiBe2009] Kikowatz, A.; Becher, G.; Dietze, S.; Steinhäusser, W.; Beck, E.:
Differential Ion Mobility Spectroscopy: Non-invasive Real-time
Diagnostics and Therapy Control in Metabolic Diseases.
In: European Journal of Medical Research. I. Holzapfel Publishers. –
Eur. J. Med. Res (2009) 14 (Suppl. IV), S. 121-125

- [Kolb2002] Kolb, Bruno: Gaschromatografie in Bildern: Eine Einführung. - 2 Aufl.
- Weinheim: WILEY-VCH Verlag, 2002
- [Labor2013] Labor 28 AG: Informationen zu MRSA
URL: < <http://www.labor28.de/igel/mrsa.html> >
verfügbar am 07.01.2013
- [LabPr2013] Laborpraxis Vogel: Informationen zu GC-Säule DB-XLB
URL:<<http://www.laborpraxis.vogel.de/analytik/chromatographie/gaschromatograph/articles/106460/>>
verfügbar am 23.03.2013
- [LoHi1990] St. Louis, R. H.; Hill, H. H. jr.: Ion mobility spectrometry in analytical chemistry.
In: Analytical Chemistry. - 21 (1990), S. 321-355
- [MaMcD1987] Mason, E.A.; McDaniel, E.W.: Transport properties of ions in gases.
New York: John Wiley & Sons, Inc., 1987, 551 S.
- [MCC2013] Multichrom Ltd.: Informationen zur GC-Säule S2-40/OV-1/0.2
URL:< <http://www.mcc-chrom.com/catalogue>>
Verfügbar am 21.03.2013
- [MINT2013] Industrie- und Handelskammer Reutlingen: Informationen zur Zusammensetzung der Ausatemluft
URL:<<http://www.mint-kids.de/showMedia.php/657/Experimentierkarten+Luft+komplett.pdf>>
verfügbar am 21.03.2013
- [MiVo2010] Mladek, Chr.; Voemel, R.: GC für Neueinsteiger
URL: < http://www.novia.de/docs/GC_fuer_Neueinsteiger.pdf >
verfügbar am 24.04.2010

-
- [NaCo2006] Nazarov, E. G.; Coy, St. L.; Krylov, E. V.; Miller, R. A.; Eiceman, G. A.: Pressure Effects in Differential Mobility Spectrometry.
In: Analytical Chemistry. - 78 (2006) 22, S. 7697-7706
- [PaRo1971] Pauling, L.; Robinson, A. B.; Teranishi, R.; Cary, P.: Quantitative Analysis of Urine Vapor and Breath by Gas-Liquid Partition Chromatography.
In: Proc. Nat. Acad. Sci. – USA: - 68 (1971) 10, S. 2374 – 2376
- [PuHi2012] Purkhart, R.; Hillmann, A.; Graupner, R.; Becher, G.: Detection of characteristic clusters in IMS-Spectrograms of exhaled air polluted with environmental contaminants
In: International Journal for Ion Mobility Spectrometry
DOI 10.1007/s12127-012-0090-4
online publiziert am 16.02.2012
- [Purk2010] Purkhart, Roman: Klassifikation von Ausatemluft anhand ihrer differenziellen Ionenbeweglichkeitsspektrogramme. – 2010. – 49 S.
Berlin, Humboldt-Universität, Institut für Informatik, Diplomarbeit, 2010
- [Res2013] Restek GmbH: Informationen zur GC-Säule MXT-5
URL:< <http://www.restekgmbh.de/index-de.php>>
verfügbar am 21.03.2013
- [ReMa1975] Revercomb, H. E.; Mason, E. A.: Theory of plasma chromatography/gaseous electrophoresis – A Review
In: Analytical Chemistry – 47 (1975) S. 970-982
- [Schu2001] Schumann, Achim: Untersuchungen zur Leistungsfähigkeit der Ionenmobilitätsspektrometrie als Detektionsverfahren für flüchtige Thermolyseprodukte bei der Entstehung von Bränden. - 2001. – 181 S.
Northeim, Universität, Dissertation 2001

- [Siele1999] Sielemann, Stefanie: Detektion flüchtiger organischer Verbindungen mittels Ionenmobilitätsspektrometrie und deren Kopplung mit Multi-Kapillar-Gas-Chromatographie. - 1999. – 132 S.
Dortmund, Universität, Fachbereich Chemie, Dissertation, 1999
- [Sion2005] SIONEX Corporation: microAnalyzer™ Series Product Manual: S-400039 Revision A. – Bedford, MA, 2005
- [Sion2008] SIONEX Corporation: Assembly Configuration. – Bedford, MA, 2008
- [STEP2012] STEP Sensortechnik und Elektronik Pockau GmbH: Bedienungsanleitung STEP Ionenmobilitätsspektrometer. -2012 – 30 S.

Anlagen

Tabelle 30 beinhaltet die gemittelten Intensitätswerte der Peaks der Mykobakterienmessreihe (siehe 4.4.1) mittels des DMS.

Tabelle 30: Vier ausgewählte Peaks der DMS-Spektrogramme der Mykobakterienmessreihe (siehe Abbildung 46)

| | Peak 43 RT: 74,67 s Vc: -7,2 V | Peak 31 RT: 229,91 s Vc: -6,08 V | Peak 33 RT: 235,25 s Vc: -4,33 V | Peak 42 RT: 255,37 s Vc: -4,04 V |
|---------------|---|---|---|---|
| Nährboden 2 W | 0 V | 0,052 V | 0,015 V | 0,0165 V |
| Nährboden 4 W | 0 V | 0,051 V | 0,015 V | 0,022 V |
| Bakterien 2 W | 0,004 V | 0,034 V | 0,02 V | 0,008 V |
| Bakterien 4 W | 0,005 V | 0,040 V | 0,013 V | 0,018 V |

Tabelle 31 beinhaltet die gemittelten Intensitätswerte der Peaks der Mykobakterienmessreihe (siehe 4.4.2) mittels des GC-IMS-Prototypen.

Tabelle 31: Sechs ausgewählte Peaks der GC-IMS-Spektrogramme der Mykobakterien-Messreihe (siehe Abbildung 51)

| | Peak 1 RT: 4,22 s Vc: -13,17 V | Peak 2 RT: 5,4 s Vc: -11,15 V | Peak 12 RT: 35,28 s Vc: -10,8 V | Peak 18 RT: 54,38 s Vc: -7,08 V |
|---------------|---|--|--|--|
| Nährboden 2 W | 0 V | 1,042 V | 0,116 V | 0,120 V |
| Nährboden 4 W | 0,807 V | 0,772 V | 0,137 V | 0,129 V |
| Bakterien 2 W | 0,099 V | 0,723 V | 0,137V | 0,187 V |
| Bakterien 4 W | 0,701 V | 0,780 V | 0,203 V | 0 V |

Selbstständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und nur unter Verwendung der angegebenen Literatur und Hilfsmittel angefertigt habe.

Stellen, die wörtlich oder sinngemäß aus Quellen entnommen wurden, sind als solche kenntlich gemacht.

Diese Arbeit wurde in gleicher oder ähnlicher Form noch keiner anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Anne Hillmann

Rüsseina, den 18.04.2013